UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
Departamento de Edafoloxía e Química Agrícola

Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados:

Evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas

Yacimiento de Rubiais (Lugo)

Fco. Javier Diez Lázaro
Noviembre de 2008
Tesis Doctoral

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
Departamento de Edafología y Química Agrícola

Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados:

Evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas

FCO. JAVIER DIEZ LÁZARO
NOVIEMBRE DE 2008
TESIS DOCTORAL

Dª. **Mª. DEL CARMEN MONTERROSO MARTÍNEZ**, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE EDAFOLOGÍA Y QUÍMICA AGRÍCOLA DE LA FACULTAD DE BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA Y Dª. **PETRA S. KIDD**, CIENTÍFICO TITULAR DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROBIOLÓGICAS DE GALICIA DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS,

INFORMAN:

que el presente trabajo titulado **"**FITOCORRECCIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON METALES PESADOS: EVALUACIÓN DE PLANTAS TOLERANTES Y OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO MEDIANTE PRÁCTICAS AGRONÓMICAS**"**, que para optar al grado de Doctor en Biología presenta D. **FCO. JAVIER DIEZ LÁZARO**, ha sido realizado bajo nuestra dirección en los laboratorios del Departamento de Edafología y Química Agrícola de la Facultad de Biología.

Considerando que representa trabajo de tesis, autorizamos su presentación a la Comisión de Doctorado de la Universidad de Santiago de Compostela.

Y para que así conste, firmamos el presente informe en Santiago de Compostela a 07 de Noviembre de dos mil ocho.

Fdo.: Dra. Mª del Carmen Monterroso Martínez Fdo.: Dra. Petra S. Kidd

AGRADECIMIENTOS

A Carmela Monterroso y Petra Kidd, que me permitieron trabajar y aprender sobre un tema apasionante y prometedor ante los tiempos que se avecinan.

A todos aquellos que de alguna manera colaboraron en la elaboración de esta tesis mediante su participación en procesos analíticos incluidos en diferentes capítulos, fundamentalmente Petra, Lidia, Fátima, Raquel, Carrete y demás compañeros de laboratorio que siempre estaban dispuestos a explicarme el funcionamiento de algún equipo o a suministrarme el material que necesitaba.

A todos aquellos que han permitido que mantuviera el equilibrio psíquico y emocional durante todos estos años y que en los buenos y en los malos momentos siempre han estado ahí para animarme a seguir y ayudarme a distraerme, empezando por mi familia y Nati, amigos, compañeros de residencia, de fútbol sala y de laboratorio que he conocido durante todo este tiempo.

Gracias.

INDICE

Justificación y Objetivos…..……..…….5

CAPÍTULO 1.- INTRODUCCIÓN GENERAL……...…...7

1. METALES PESADOS EN SUELOS - CONTAMINACIÓN 9

2. RIESGO AMBIENTAL – MOVILIDAD Y BIODISPONIBILIDAD DE METALES 16

3. LA RECUPERACIÓN DE LOS SUELOS CONTAMINADOS 20

4. LA FITOCORRECCIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS..... 23

Fitoextracción de metales pesados 27
Fitoestabilización de metales pesados 29

5. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE FITOCORRECCIÓN. VÍAS DE INVESTIGACIÓN 32

Búsqueda geobotánica y prospección biogeoquímica de nuevas especies 33
Mejora del proceso mediante prácticas agronómicas 34
Fitoextracción inducida por agentes quelantes..... 37
Mejora del proceso mediante manipulación rizosférica 39
Selección y reproducción de cultivares mejorados 43
Mejora genética de plantas 44
Tratamiento del material vegetal residual 46

6. REFERENCIAS..... 49

CAPÍTULO 2.- ESTUDIO FITOGEOQUÍMICO DE LA REGIÓN DE TRAS-OS-MONTES (NE PORTUGAL). INFLUENCIA DEL MATERIAL ORIGINAL EN LA ACUMULACIÓN DE METALES EN PLANTAS……..…...75

1. INTRODUCCIÓN 77

2. MATERIALES Y MÉTODOS 79

Área de estudio 79
Toma de muestras..... 79
Análisis de suelos y plantas 81
Tratamiento estadístico..... 82

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 83

Composición química de las rocas 83
Caracterización de los suelos..... 84
Acumulación y transporte de metales en plantas 87

4. CONCLUSIONES..... 94

5. REFERENCIAS..... 95

CAPÍTULO 3.- DISTRIBUCIÓN Y ESPECIACIÓN QUÍMICA DE METALES PESADOS EN SUELOS Y VEGETACIÓN DE LA ANTIGUA EXPLOTACIÓN MINERA DE Pb/Zn DE RUBIAIS ……...……..99

1. INTRODUCCIÓN 101

2. MATERIALES Y MÉTODOS 103

Área de estudio 103
Toma de muestras..... 105
Análisis de Suelos y Plantas 108
Tratamiento estadístico..... 109

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 110

Propiedades físico-químicas de los suelos..... 110
Contenido, especiación y biodisponibilidad de metales en los suelos..... 114
Metales pesados en la vegetación colonizadora – tolerancia de metales pesados 127
Tasas de bioacumulación de metales en plantas - Implicaciones en fitocorrección..... 134

4. CONCLUSIONES..... 137

5. REFERENCIAS..... 139

CAPÍTULO 4.- OPTIMIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Cistus ladanifer* EN SUELOS DE MINA. EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN Y DE LA MODIFICACIÓN DEL pH EN EL SUELO ……..…….....147

1. INTRODUCCIÓN 149

2. MATERIALES Y MÉTODOS 151

Sustrato de crecimiento..... 151
Tratamientos de fertilización (N/P)..... 152
Tratamientos de acidificación..... 152
Material vegetal y condiciones de crecimiento..... 152
Análisis de suelos y plantas..... 153
Tratamiento estadístico..... 153

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 154

Crecimiento de C. ladanifer en suelos de mina..... 154
Acumulación de metales en C. ladanifer e implicaciones de la fertilización y acidificación en posibles procesos de fitocorrección..... 156

4. CONCLUSIONES..... 168

5. REFERENCIAS..... 169

CAPÍTULO 5.- RESISTENCIA Y BIOACUMULACIÓN DE ZINC EN DIFERENTES PLANTAS AUTÓCTONAS TOLERANTES A METALES …...175

1. INTRODUCCIÓN 177

2. MATERIALES Y MÉTODOS 181

Sustratos de crecimiento 181
Material vegetal y condiciones de crecimiento..... 182
Análisis de suelos (no rizosférico y rizosfera) y plantas 182
Tratamiento estadístico..... 183

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 184

Producción de biomasa y tolerancia al Zn 184
Bioacumulación de Zn en los tejidos vegetales..... 186
Efecto rizosférico sobre las propiedades físico-químicas del suelo 189
Implicaciones en la fitocorrección de suelos contaminados..... 199

4. CONCLUSIONES..... 203

5. REFERENCIAS..... 204

CAPÍTULO 6.- FITOEXTRACCIÓN INDUCIDA DE CROMO EN SUELOS CONTAMINADOS CON RESIDUOS DE CURTIDURÍA…….……..…213

1. INTRODUCCIÓN 215

2. MATERIALES Y MÉTODOS 221

Sustratos de crecimiento 221
Material vegetal y condiciones de crecimiento..... 222
Tratamientos con agentes quelantes 223
Análisis de lixiviados, material vegetal y sustratos..... 224
Tratamiento estadístico..... 225

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 226

Efecto de los agentes quelantes sobre la movilidad y biodisponibilidad de cromo..... 226
Tolerancia al Cr y su bioacumulación en plantas..... 229
Eficiencia del proceso de fitoextracción..... 236

4. CONCLUSIONES..... 239

5. REFERENCIAS..... 240

Conclusiones generales……249

ANEXO 1.- ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL ÁREA DE TRAS-OS-MONTES (CAPÍTULO 2)…….…….....253

ANEXO 2.- ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL YACIMIENTO DE RUBIAIS (CAPÍTULO 3)…….…...…..275

ANEXO 3.- ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL ENSAYO DE OPTIMIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Cistus ladanifer* (CAPÍTULO 4)..287

ANEXO 4.- ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL ENSAYO DE BIOACUMULACIÓN DE Zn (CAPÍTULO 5)…….…...…321

ANEXO 5.- ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL ENSAYO DE FITOEXTRACCIÓN INDUCIDA DE Cr (CAPÍTULO 6)……...……...……..331

Justificación y Objetivos

Se estima que el número de suelos potencialmente contaminados en la Unión Europea está entre 3,250,000 y 3,600,000. La gran mayoría de estos suelos presentan cantidades variables de metales pesados que son movilizados, principalmente, por diferentes actividades industriales y agrícolas. La legislación Europea y Nacional obliga a la restauración de esos suelos mediante acciones que permitan extraer, controlar, contener o reducir los contaminantes de un área determinada.

Dentro del amplio abanico de tecnologías existentes para la restauración de los suelos contaminados en metales pesados, la fitocorrección, que implica la utilización de plantas, se presenta como una técnica emergente que supone generalmente unos menores costes y una menor destrucción y alteración del medio. Sin embargo, todavía es una técnica en fase experimental y presenta grandes limitaciones que la convierten en un proceso lento y difícil de llevar a la práctica dada la competencia con otras técnicas usualmente empleadas. Algunas de las limitaciones más importantes se centran en la escasez de especies vegetales potencialmente utilizables, en muchos casos especies foráneas e invasivas que podrían afectar a la biodiversidad local. En adición, el escaso crecimiento y producción de biomasa de la mayor parte de estas especies supone una fuerte limitación y ralentización del proceso. Determinados metales contaminantes que presentan una escasa movilidad y biodisponibilidad para las plantas, como el Pb o el Cr, dificultan, por otra parte, la aplicación efectiva de determinadas técnicas de fitocorrección en suelos contaminados.

En este contexto, se plantea el presente trabajo con el objetivo de evaluar diferentes especies vegetales locales potencialmente utilizables en tecnologías de fitocorrección y optimizar su uso mediante distintas prácticas agronómicas. Para ello se llevaron a cabo diferentes campañas de muestreo y ensayos de invernadero que tratan de responder específicamente a los siguientes objetivos:

1. Búsqueda de nuevas especies vegetales de interés desde el punto de vista de la fitocorrección mediante muestreos de suelos y plantas en áreas de elevada concentración de metales pesados. Las áreas serpentiníticas, con suelos naturalmente enriquecidos en metales pesados a causa de la composición química de la roca original, presentan, por ejemplo, un gran grupo de plantas útiles y son, por tanto, de especial interés en la búsqueda de nuevas especies (Capítulo 2). También las zonas mineras contaminadas por la explotación de yacimientos metálicos pueden ser fuentes para la obtención de plantas con potencial uso en fitocorrección, debido a que la alta presión selectiva de los suelos contaminados posibilita la selección de genes para la tolerancia a metales y la evolución de poblaciones resistentes (Capítulo 3).

2. Establecimiento de las condiciones edáficas más adecuadas para el crecimiento óptimo de las especies seleccionadas en función de su potencial fitocorrector, valorando la posibilidad de incrementar su rendimiento en el proceso. Distintas prácticas agronómicas como la fertilización y la variación de pH de los suelos suelen influir tanto en el establecimiento y crecimiento de la planta como en la movilidad de los contaminantes. Su influencia varía, sin embargo, entre especies/poblaciones de plantas y entre diferentes metales, por lo que la dosis de fertilizante y el valor de pH óptimos serán determinados en cada caso (Capítulo 4).

3. Evaluación del potencial de algunas de las especies seleccionadas para su uso en técnicas de fitocorrección mediante ensayos de invernadero con suelos contaminados en determinados metales, elegidos en función de los resultados encontrados. El nivel de tolerancia a las elevadas concentraciones de metales en el suelo y el patrón de acumulación en los tejidos vegetales, que determina en definitiva el potencial fitocorrector de cada especie, será relacionado con distintos procesos rizosféricos (Capítulo 5).

4. Evaluación del efecto de la aplicación de determinados agentes quelantes sobre la solubilidad, movilidad y biodisponibilidad de Cr en suelos contaminados y su efecto sobre un posible proceso de fitocorreción llevado a cabo con alguna de las especies seleccionadas y con otras especies de reconocido potencial fitoextractor, como *Brassica juncea*. Con ello, se pretende contribuir al conocimiento de agentes quelantes alternativos y a la evolución y optimización de los procesos de fitocorrección de suelos contaminados por Cr (Capítulo 6).

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. METALES PESADOS EN SUELOS - CONTAMINACIÓN

El término de “metal pesado” se refiere a aquellos metales de la tabla periódica cuyo peso específico es superior a 5 g/cm^3 o que tienen un número atómico por encima de 20, excluyendo generalmente a los metales alcalinos y elementos alcalinotérreos (Breckle, 1991; Tiller, 1989). El término resulta algo impreciso si se tienen en cuenta las propiedades físico-químicas de los elementos, especialmente las propiedades iónicas que definen la capacidad de complejación y las propiedades biológicas. Se han utilizado otros términos como “metal tóxico” o “elemento traza”, sin que ninguno de ellos se refiera a los mismos elementos, resultando igualmente poco satisfactorios. En cualquier caso, de acuerdo con Tiller (1989), parece que el término de “metal pesado” puede ser utilizado de una forma globalizadora para referirse a aquellos metales clasificados como contaminantes ambientales. Los metaloides, por su parte, poseen características intermedias entre los metales y los no metales de acuerdo con sus propiedades de enlace e ionización. Metaloides como el As, Se o Sb también pueden constituir importantes contaminantes ambientales.

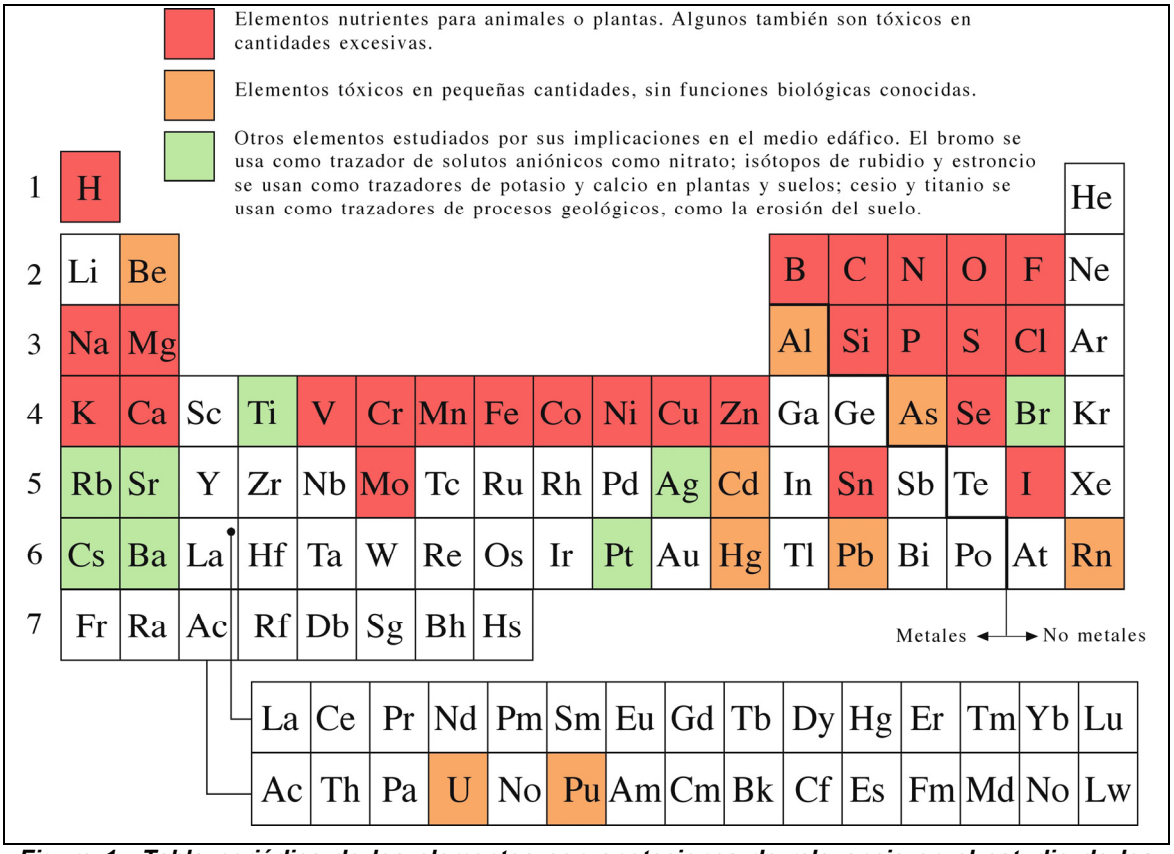

Figura 1.- Tabla periódica de los elementos con anotaciones de relevancia en el estudio de los suelos (Fuente: Brady & Weil, 2002).

Entre los metales pesados hay elementos esenciales y no esenciales para los seres vivos (Figura 1), aunque el límite entre estos dos grupos no está claramente delimitado y la lista de elementos biológicamente importantes aumenta con el tiempo. Normalmente se reconocen como elementos esenciales al Fe, Mn, Zn, Cu, Co y Mo, como elementos benéficos al Ni y Cr, y se considera que no tienen ninguna función biológica elementos como el Cd, Hg, Pb y As (Bowen, 1979; Brady & Weil, 2002). Los metales pesados, ya sean esenciales o no, pueden llegar a ser tóxicos cuando su aporte es excesivo y afectar negativamente al crecimiento y reproducción de los organismos, pudiéndoles causar incluso la muerte. El incremento de metales pesados en los suelos inhibe además la actividad enzimática microbiana y reduce la diversidad de las poblaciones de flora y fauna, provocando infertilidad e incrementando los procesos erosivos. La transferencia de metales al hombre puede ocurrir a través del suelo (inhalación e ingestión de polvo), alimentos, agua, aire o piel (resultado de la absorción dérmica de contaminantes del suelo y el agua) (Chang et al., 1993; Ryan & Chaney, 1997). Los efectos toxicológicos de los metales hacia los humanos, particularmente de Cd, Zn, Hg y Pb y de metaloides como el As, que representan algunos de los más peligrosos, han sido bien documentados y existen referencias donde se puede obtener información al respecto (Adriano, 2001; Rubio et al., 2007).

Todos los suelos poseen metales pesados como resultado de los procesos geológicos y edafogenéticos. Al contenido natural de elementos químicos existentes en un suelo se le llama fondo geoquímico local (FG) o nivel de fondo (Ross, 1994), y representa una situación ideal que se debe conocer para determinar la contaminación por la presencia de cantidades de metales inusualmente elevadas (Gough, 1993). La determinación del FG en los suelos no es una tarea fácil, y su valor varía geográficamente sobre todo en función del material geológico (Adriano, 2001). Generalmente las rocas ígneas y metamórficas, que ocupan el 95% de la corteza terrestre (Mitchell, 1964), presentan cantidades elevadas de Mn, Cr, Co, Ni, Cu y Zn, y representan una fuente natural importante de metales pesados hacia los suelos (Ross, 1994). La concentración natural de metales en suelos derivados de rocas ultrabásicas serpentinizadas, por ejemplo, llega a ser tóxica para animales y plantas como resultado de los elevados contenidos en metales pesados de la roca madre de la cual derivan. Existen multitud de referencias que definen los rangos típicos de metales pesados en las distintas rocas y que ponen de manifiesto la amplia variabilidad existente (Adriano, 1986; Alloway, 1995; Kabata Pendias & Pendias, 1992; Merian, 1991; Ross, 1994) (Tabla 1). En el "Atlas Geoquímico de Galicia" (Xunta de Galicia, 1992) se presentan los contenidos de metales en los suelos de esta Comunidad Autónoma y reflejan la naturaleza de la roca sobre la que se han desarrollado. Cabe destacar la existencia de dos zonas serpentiníticas (Melide y serra da Capelada) que acumulan gran cantidad de los metales considerados (con concentraciones de Co, Cu, Cr y Ni > 90%, > 150 mg kg^{-1}, > 500 mg kg^{-1} y > 1000 mg kg^{-1}, respectivamente), la alta concentración en Zn (con mucha frecuencia >400 mg kg^{-1}) de los suelos de la parte Este de Galicia asociada

Tabla 1. Rangos de concentraciones típicas de metales traza en los tipos de rocas más abundantes (en mg kg^{-1}) (Fuente: Ross, 1994).

	Rocas Ígneas			Rocas Sedimentarias		
	Ultrabásicas	**Básicas**	**Granitos**	**Caliza**	**Arenisca**	**Esquisto**
Cd	0.12	0.13-0.2	0.09-0.2	0.028-0.1	0.05	0.2
Co	110-150	35-50	1	0.1-4	0.3	19-20
Cr	2000-2980	200	4	10-11	35	90-100
Cu	10-42	90-100	10-13	5.5-15	30	39-50
Hg	0.004	0.01-0.08	0.08	0.05-0.16	0.03-0.29	0.18-0.5
Mn	1040-1300	1500-2200	400-500	620-1100	4-60	850
Ni	2000	150	0.5	7-12	2-9	68-70
Pb	0.1-14	3-5	20-24	5.7-7	8-10	20-23
Sn	0.5	1-1.5	3-3.5	0.5-4	0.5	4-6
Zn	50-58	100	40-52	20-25	16-30	100-120

fundamentalmente a pizarras y filitas, y la alta concentración de varios de los metales al E de Santiago de Compostela y en la zona de Carballo y Coristanco, asociado a afloramientos de rocas básicas, fundamentalmente anfibolitas y gabros.

La contaminación de los suelos deriva de un incremento del contenido de metales en muchas ocasiones varias veces por encima del FG, que surge de la ejecución de determinadas actividades humanas (Nriagu, 1984). Hasta hace pocos años, la consideración de un suelo contaminado en Europa se basaba en unos cuantos niveles críticos definidos en el Anexo 1ª de la Directiva 86/278/EEC (CEC, 1986), y que establece valores límite de concentración de metales en suelos agrícolas fertilizados con lodos (Reiniger, 1997). Esta directiva fue ejecutada en forma de leyes nacionales, con algunos niveles críticos más bajos en algunos países (Holanda, Dinamarca, Suecia). En España, el Real Decreto 9/2005, de 14 de Enero (B.O.E nº 15, 2005), considera el FG, que denomina "nivel genérico de referencia" (NGR), como el parámetro básico para la evaluación, por parte de las Comunidades Autónomas, de la contaminación del suelo por determinadas sustancias.

La UE distingue cinco categorías de actividades potencialmente contaminantes de metales pesados (Van-Camp et al., 2004):

- Industria: accidentes, vertidos, escapes o fugas, almacenamiento y deposición de residuos.

- Actividades mineras: con un riesgo generalmente asociado con el almacenamiento y deposición de escombreras, drenajes ácidos y el uso de ciertos reactivos químicos.
- Actividades de procesado de residuos: Se estima que el 57% de los residuos municipales generados en la UE se llevan a un vertedero; el 87% en la CEE (EEA, 1995).
- Tráfico: a través de emisión de gases, pérdidas de aceites y gasolinas, abrasión de gomas de los neumáticos, etc.
- Otras actividades: productos de construcción usados sobre el suelo (hormigones, pinturas), prácticas inadecuadas de agricultura (uso de fertilizantes y pesticidas) almacenamientos privados y comerciales (tanques, gasolineras), sistemas de tratamientos de aguas, etc.

En la Figura 2 se representa las principales fuentes de contaminación del suelo por metales pesados según los datos disponibles. Este tipo de actividades contaminantes aportan metales pesados a los suelos hasta que alcanzan niveles que superan los límites propuestos, causando frecuentemente efectos tóxicos para los organismos. Se estima, por ejemplo, que el aporte de metales como Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Mo, Zn y de metaloides como Se derivado de actividades industriales es aproximadamente de 10 a 20 veces mayor que la cantidad aportada por la meteorización natural de los materiales geológicos (Nriagu, 1990). Algunos autores, como Nriagu & Pacyna (1988), señalan, además, que la toxicidad de los metales pesados emitidos por año excede la de los contaminantes orgánicos y radioactivos, asumiendo la toxicidad como una medida de la cantidad de agua necesaria para diluir la concentración de los contaminantes a niveles seguros. En adición, al contrario que los contaminantes orgánicos, los metales no se biodegradan y generalmente se presentan en formas inmóviles, lo que supone un elevado tiempo de residencia en el ambiente.

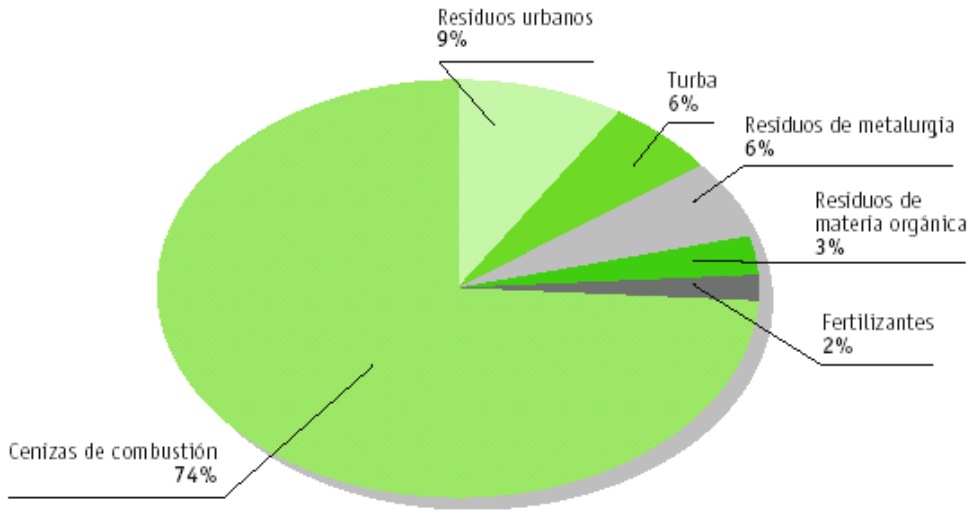

Figura 2 - Principales fuentes de procedencia de metales pesados en suelos (Fuente: Mas & Azcúe, 1993).

La contaminación local de metales pesados se asocia a vertidos localizados, como vertidos de industrias de fundición de metales, cuyo impacto llega a detectarse a varios kilómetros de la fuente de emisión (Legrand et al., 2005; Orescanin et al., 2006; Koptsik et al., 2003); drenajes ácidos y aguas de escorrentía generados por la oxidación de materiales de tipo pirítico en escombreras de mina, que pueden alcanzar valores de pH<3 provocando la disolución de metales (Carlson & Adriano, 1993; Anderson et al., 1993; Macías et al., 1992); una elevada producción de cenizas derivadas de la combustión del carbón, que moviliza de forma significativa metales como Cd, Mo, Zn y metaloides como As y Se (Carlson & Adriano, 1993); o la existencia de una gran cantidad de vertederos de diferentes residuos, especialmente los más antiguos construidos sin barreras de contención y que suponen un peligro potencial para la contaminación de los estratos más profundos del suelo y las aguas subterráneas (Andelman & Underhill, 1990; Suter et al., 1993).

La contaminación difusa de metales pesados se asocia con procesos que afectan a grandes áreas de terreno, como la deposición atmosférica, ciertas prácticas agrícolas y el inadecuado reciclaje de basuras y aguas residuales. La deposición atmosférica representa una de las mayores fuentes de metales pesados hacia el suelo (Figura 2) (Mas & Azcúe, 1993; Haygarth & Jones, 1992; Dudka & Adriano, 1997), con la deposición de metaloides volátiles (Se, Hg, As y Sb) o polvo y/o cenizas volantes enriquecidas fundamentalmente en Pb, Cd, Zn, Cu, Ni y V (y emisiones de vehículos de motor). Por su parte, algunos sistemas de producción agrícola suponen la adición directa durante largos períodos de tiempo de metales pesados asociados a diferentes fertilizantes, fundamentalmente Cd por el uso de fosfatos (en Europa una media de 138 mg Cd kg^{-1}) (McGrath et al., 2002) y Ni por el uso de nitrato de calcio (Verloo & Willaert, 1990). También el uso del estiércol procedente de animales supone frecuentemente la contaminación de aguas con nitratos, sales y metales (principalmente Cu y Zn) (Adriano, 1986; Baker, 1974; Webber, 1981), o la adición de antibióticos y pesticidas ricos en sales de Zn, arseniatos de Cu y Pb y distintos compuestos órgano-metálicos (Frank et al., 1976; Freedman & Hutchinson, 1981; Merry et al., 1983; Koshiek et al., 1994) o de lodos de depuradora con concentraciones variables de metales pesados (Adriano 2001; McBride, 2004).

Tras la publicación de la "*Thematic Strategy on Soil Protection*" por parte de la Comisión Europea (CEC, 2002), los diferentes países Europeos se están viendo obligados a realizar un inventario de las áreas contaminadas de su territorio, por lo que actualmente se dispone de mayor información sobre la magnitud del problema existente. En la tabla 2 se indica la estima más reciente del número de espacios (potencialmente) contaminados por país realizada en relación al área de "*superficies artificiales*" (terrenos ocupados por "fabricas urbanas", "unidades industriales, comerciales y de transporte" y "minas, vertederos y lugares de construcción") obtenidos de la base de datos europea "*Corine"* (AEMA, 2000). El número de espacios potencialmente contaminados extrapolado en la UE25 se encuentra entre 3250000 y

Tabla 2 –Extrapolación del número de espacios (potencialmente) contaminados en la UE25, basado en el área de "superficies artificiales" y usando la estima de 14 países. (Fuente: CEC, 2006).

	Superficies artificiales[1] (1000 Km^2)	**Nº estimado de espacios potencialmente contaminados (nº/1000 Km^2 S.A.)**	**Nº estimado de espacios contaminados (nº/1000 Km^2 S.A.)**
Austria	1.5	20000	1667
Bélgica-Flandes	3(est)	25000	3667
República Checa	4.2	1185	119
Dinamarca	2.4	12500	
Finlandia	2.4	8333	2708
Francia	20	45000	
Irlanda	0.7	3286	286
Hungría	5.1	5882	588
Italia	12	8333	
Lituania	2	7500	
Eslovenia	0.5	5384	
España	6.7	3946	
Suecia	5.2	10865	2211
Holanda	3.3	181181	18181
Total	Total de superficies artificiales 14 países: 69 8 países: 25	Nº total de espacios para los 14 países de la UE 1180000 Media ponderada para los 14 países: 27400 espacios/1000 Km^2 S.A	Nº total de espacios para los 8 países de la UE 95000 Media ponderada para los 8 países: 3800 espacios/1000 Km^2 S.A
Extrapolación para el total de la UE 25	Total de superficies artificiales UE 25 (1000 km^2) 119.3	Total nº de espacios potencialmente contaminados para UE 25 3250000	Total nº de espacios contaminados para UE 25 450000

1. Basada en Corine 2000 y para Suecia en los datos más recientes del uso del terreno de Eurostat (*Statistical Office of the European Communities)*.
La superficie artificial de Bélgica-Flandes fue estimada.

3600000. El número de espacios contaminados reales (en donde existe un riesgo para la salud humana o el ambiente) fue estimado entre 450000 y 630000. La amplitud de los rangos estimados se debe a la diferencia de calidad y grado de avance en los inventarios y a la heterogeneidad de criterios con que se definen los suelos contaminados, se cuantifican los riesgos aceptables y se adoptan los instrumentos y metodologías de caracterización en los diferentes países. Como cifra final, se suele hablar de una estima de unos 3.5 millones de espacios potencialmente contaminados en Europa, de los cuales 0.5 millones se ha comprobado que están realmente contaminados y necesitan ser restaurados (CEC, 2006).

En España, en 1995 se aprobó el Plan Nacional de Recuperación de Suelos Contaminados (PNRSC 1995-2005) (B.O.E. nº 114, 1995), en donde se inventariaron un total de 18142 actividades industriales que eran focos potenciales de espacios contaminados y se estimaron 4532 emplazamientos como potencialmente contaminados por el tipo, concentración de contaminantes y potencial de dispersión de los mismos, así como por el sistema biofísico y antrópico en el que se encontraban y por la vulnerabilidad que presentaban estos medios. Del total de emplazamientos identificados, 250 fueron sometidos a un proceso de caracterización

en campo y posteriormente evaluados en función del daño y riesgo que presentaban para la salud pública, recursos naturales y el medio ambiente (Tabla 3). Tras el PNRSC, los últimos datos disponibles señalan que ya se han detectado 26440 emplazamientos en los que se desarrollan actividades potencialmente contaminantes, de los cuáles más de 15000 son susceptibles de haber producido una contaminación superior a la admisible (Ministerio de Medio Ambiente – Gabinete de Prensa, 2005). Actualmente se está trabajando sobre el 2º PNRSC (2007-2015).

Tabla 3. Inventario Nacional de Espacios Contaminados. Actividades industriales y emplazamientos potencialmente contaminados (Fuente: B.O.E nº 114, 1995).

Comunidad Autónomas	Actividades industriales	Emplazamientos inventariados	Emplazamientos caracterizados
Andalucía	1.396	618	31
Aragón	717	321	-
Asturias	394	153	12
Baleares	303	12	2
Canarias	396	222	9
Cantabria	238	77	5
Castilla y León	811	399	21
Castilla-La Mancha	287	397	11
Cataluña	4.913	577	40
Valencia	2.330	307	32
Extremadura	183	29	4
Galicia	860	524	1
Madrid	2.277	222	16
Murcia	469	73	8
Navarra	334	23	6
País Vasco	2.059	539	30
La Rioja	153	34	3
Ceuta-Melilla	22	5	1
Total	18.142	4.532	250

Nota: En Aragón no se caracterizaron emplazamientos por tenerlos identificados en el estudio de Localización, caracterización y análisis de riesgos de Espacios Contaminados por Residuos Industriales en Aragón y elaboración de un plan de restauración de los mismos, realizado por el Departamento de Ordenación Territorial, Obras Públicas y Transportes de la Dirección General de Medio Ambiente.

Tabla 4 - Distribución provincial y tipo de situación de los suelos potencialmente contaminados en la Comunidad Autónoma de Galicia (Fuente: Xunta de Galicia, 2003).

Tipo	A Coruña	Lugo	Ourense	Pontevedra	Total
Ind. activo	75	33	24	93	225
Ind. inactivo	2	2	4	3	11
Ruina industrial	5	9	5	3	22
Almacén	8	3	9	9	29
Total	90	47	42	108	287

En Galicia, entre 1997 y 1998 se desarrolla el "Programa Operativo de Solos Contaminados de Galicia" (POSC, 1ª y 2ª fase), que consistió en la actualización y jerarquización del inventario nacional de suelos contaminados para la Comunidad Autónoma (Xunta de Galicia, 1997, 1998). En él se habla de 619 localizaciones con posibles riesgos, repartidas entre las 4 provincias (A Coruña: 140 / Lugo: 113 / Ourense: 154 / Pontevedra: 212). Tras la jerarquización definitiva, se obtuvieron 287 situaciones industriales potencialmente contaminadas (Tabla 4).

Los datos existentes hasta ahora son, sin embargo, insuficientes para poder calcular ciertos parámetros, como la superficie total contaminada por cada tipo de contaminante, el porcentaje de población expuesta a la contaminación y el daño ambiental causado. Sí se puede establecer, sin embargo, que en la mayor parte de los países en donde se tienen datos se han encontrado muchos espacios contaminados con mezclas de contaminación orgánica e inorgánica, y estos terrenos poseen problemas particulares de restauración. Dentro de España, algunas Comunidades Autónomas han realizado inventarios de áreas contaminadas de una forma más detallada y que pueden dar una idea de la situación general. Así, la Comunidad Autónoma de Madrid puntualiza que los principales contaminantes encontrados en los suelos contaminados caracterizados en su inventario fueron los metales pesados (54%), los hidrocarburos (un 17% presentaba únicamente hidrocarburos y un 16% adicional se hallaban mezclados con metales pesados) y, por último, los PCBs (5 %) (Comunidad de Madrid, 2001).

2. RIESGO AMBIENTAL – MOVILIDAD Y BIODISPONIBILIDAD DE METALES

Las formas químicas en las que se encuentran los metales en el suelo y en gran medida la movilidad y biodisponibilidad que presentan viene determinada por el conjunto de los diferentes componentes del suelo, así como los factores químicos, físicos y biológicos que influyen en la reactividad de esos componentes (He et al., 1998; García et al., 2005). Los elementos traza de un suelo se reparten entre una fracción soluble en agua, en posiciones intercambiables de arcillas y materia orgánica, unidos a óxidos, carbonatos, sulfatos y fosfatos, complejados en materia orgánica y dentro de las redes cristalinas de la fracción residual (Shuman, 1991) (Figura 3). El equilibrio de los metales entre los diferentes componentes del suelo viene regulado por una serie de procesos bióticos y abióticos que gobiernan su comportamiento y determinan su permanencia en un compartimento u otro, es decir, su especiación biogeoquímica. Ello provoca una dinámica e intercambio de elementos entre las diferentes fases que mantiene un sistema de quasi-equilibrio bajo condiciones de campo (He et al., 1998).

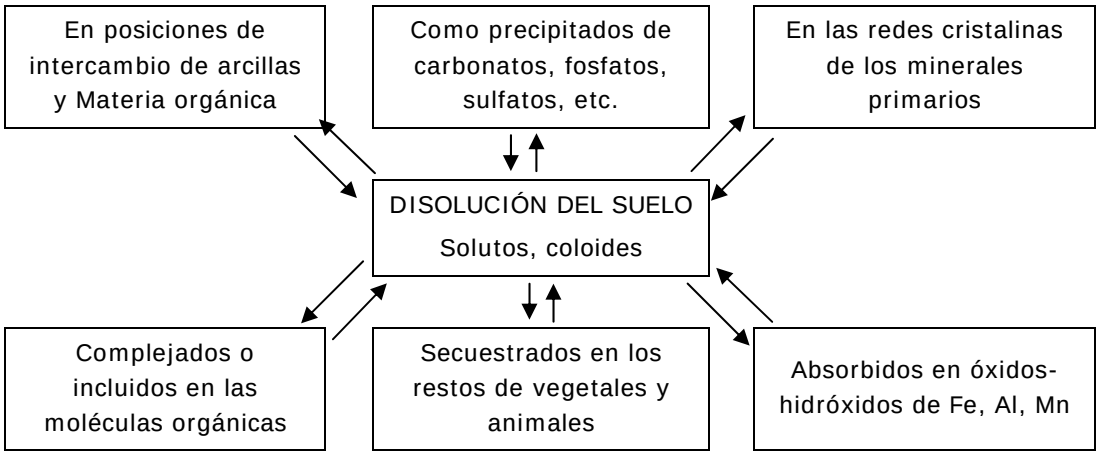

Figura 3.- Compartimentalización de los metales pesados en el suelo (Fuente: López Arias & Grau Corbí, 2004).

Los procesos que gobiernan la compartimentalización de metales en los suelos se traducen en reacciones de adsorción-desorción y precipitación-disolución, que afectan directamente al reparto de metales entre la fase sólida y acuosa, así como reacciones de complejación y oxidación-reducción que afectan a la reactividad del propio metal (solubilidad y biodisponibilidad) (Navas & Lindhorfer 2003; Basta et al., 2005). Estas reacciones están controladas por factores ambientales como el pH, la capacidad de intercambio de cationes (CIC), el potencial redox y el propio tipo y especiación química de los elementos (Adriano, 1986; Alloway, 1995; McBride, 1994; Sposito, 1989).

El pH se considera el factor dominante en el comportamiento de metales, ya que afecta a la carga de superficie de las arcillas, la materia orgánica y los óxidos de Fe y Al e influye en la complejación de los metales con la materia orgánica, en las reacciones de precipitación-disolución, reacciones redox y dispersión de coloides. Un incremento de pH provoca un incremento de la adsorción y retención de cationes, con un máximo en torno a la neutralidad (Evans et al., 1995). Excepciones son el Mo, V, Cr(III) y metaloides como el As y el Se, comúnmente menos móviles bajo condiciones ácidas (Adriano, 2001). En el caso del Cd, el incremento de la solubilidad con el descenso del pH comienza a un pH de 6,5. En el Pb y Hg comienza a valores de pH 4, mientras que otros elementos como As, Cr, Ni y Cu comienza a solubilizarse a pH entre esos dos valores extremos (Scheffer & Schachtschabel, 1989).

La CIC de los suelos es ampliamente dependiente de las superficies de adsorción determinadas por la cantidad y tipo de arcillas, materia orgánica y óxidos de Fe, Al y Mn. En general, cuanto mayor es el contenido en arcilla, mayor es la CIC y por tanto mayor es la cantidad de metales que pueden ser retenidos sin peligro potencial, ya que se limita la solubilidad y movilidad de los metales intercambiados. Las arcillas 2:1 (montmorillonita y vermiculita), además, tienen valores mucho más altos de CIC que las 1:1 (caolinitas) (Evans, 1989). La capacidad de adsorción de los óxidos de Fe, Al y Mn también puede jugar un papel

importante en el control de la inmovilización de metales en los suelos y sedimentos (Gadde & Laitinen, 1974; Jenne, 1968). En adición, algunos metales pesados, como Co, Cu, Hg, Ni, Pb y Zn exhiben afinidades bastante altas con la materia orgánica, formándose complejos solubles e insolubles. La materia orgánica tiene tanto la propiedad de intercambio de cationes como la capacidad de complejación. La atracción selectiva de cationes es menos reversible que en el caso de las arcillas debido a la formación de enlaces pH-dependientes sobre las superficies de carga variable y a la complejación con los grupos funcionales existentes. Los procesos de complejación ocurren como una reacción de intercambio con las moléculas de agua coordinadas, que son intercambiadas por algunos ligandos, y que puede ser descrita mediante el principio de los ácidos y bases fuertes y débiles de Lewis (Stumn & Morgan, 1981). Los protones y todos los cationes metálicos de interés en la disolución del suelo son ácidos de Lewis (Sposito, 1984), mientras que las bases de Lewis incluyen H_2O, oxianiones como OH^-, SO_4^{-2}, PO_4^{-3}, COO^-, CO_3^{-2}, F^-, NO_3^- y compuestos orgánicos de N, S y P donadores de electrones. Según el principio de Lewis, las bases fuertes prefieren complejarse con ácidos fuertes, mientras que las bases débiles prefieren complejarse con ácidos débiles, bajo condiciones comparables de fuerzas ácido-base (Essington, 2004). Estas uniones son mucho más fuertes debido a que los iones penetran en la estructura cristalina y son unidos por enlaces covalentes vía átomos de O o grupos OH.

El contenido de humedad de los suelos es otro factor importante que gobierna la especiación de metales y su movilidad a través de reacciones de oxidación-reducción. Bajo condiciones reductoras se pueden formar sulfuros de metales, que son bastante insolubles, por lo que la movilidad y biodisponibilidad son considerablemente menores que las esperadas bajo condiciones oxidantes. El análisis de una disolución extraída de un suelo tratado con lodo indica, por ejemplo, el descenso de la solubilidad de Cd, Cu y Zn y el incremento de la solubilidad de Mn y Fe bajo condiciones reductoras (Bingham et al., 1976). Por otro lado, se sabe que la naturaleza química de las superficies minerales es el factor más significativo que contribuye a la retención/movilidad de contaminantes, y esas propiedades son generalmente consideradas invariables durante el tiempo de exposición y reacción del contaminante. Algunos estudios demuestran, sin embargo, que la superficie química mineral se modifica ampliamente por cambios en el estado de oxidación del Fe en la estructura cristalina mineral, suponiendo un gran impacto en el ambiente químico. La actividad redox de la superficie mineral afectará al estado de oxidación, y consecuentemente a la especiación y comportamiento químico, de los metales iónicos de la fase acuosa sensibles a las reacciones redox (como por ejemplo el Cr, que puede pasar de Cr^{6+} a Cr^{3+}, menos móvil y peligroso y que puede precipitar como óxido). Las variaciones en la oxidación-reducción deben desempeñar sobre los compuestos adsorbentes sensibles a las reacciones redox, por tanto, cambios químicos *"in situ"* durante cortos períodos de tiempo que produce diferencias vitales en la especiación y reactividad de todos los componentes en el sistema suelo-agua (Adriano, 2001).

Finalmente, ciertas propiedades físico-químicas de los propios elementos, como su electronegatividad, el potencial iónico, radio iónico y diámetro del ión hidratado en disolución acuosa, presentan igualmente influencia sobre el comportamiento biogeoquímico de los metales. La electronegatividad influye en el orden por el cuál los metales pesados son adsorbidos en los constituyentes del suelo, de manera que aquellos metales más electronegativos tienden a formar fuertes uniones covalentes con átomos de oxígeno en la superficie. Para algunos metales divalentes, las preferencias de unión podrían ser: Cu>Ni>Co>Pb>Cd>Zn>Mg>Sr (Adriano, 2001). Sin embargo, la fuerza de unión está influenciada también por el potencial iónico (relación carga/radio), generando un patrón diferente: Ni>Mg>Cu>Co>Zn>Cd>Sr>Pb (Adriano, 2001). Los metales traza trivalentes Fe^{+3} y Cr^{+3} podrían ser preferentemente adsorbidos, en cualquier caso, en presencia de los metales divalentes listados anteriormente. De la misma manera, cabe comentar que los óxidos de Mn muestran una preferencia particularmente fuerte por la adsorción de Cu, Ni, Co y Pb, mientras que los óxidos de Fe y Al adsorben preferencialmente Pb y Cu (McBride, 1994).

Debido a esta variedad de factores, la movilidad y el riesgo de toxicidad por metales para los diferentes organismos y para la salud humana no puede ser únicamente basado en la concentración total del elemento en cuestión, sino más bien en su estado físico-químico (Kelly, 1998; Prost et al., 1997; Mulligan et al., 2001; Galán et al., 2003; Tüzen, 2003). La biodisponibilidad de un elemento se refiere a las formas biológicamente disponibles que pueden llegar a ser absorbidas por un organismo e integrarse en su metabolismo (Campbell, 1995), y va a depender fundamentalmente de las formas o especiación en las que se encuentren los metales en el suelo y de la capacidad de absorción del propio organismo. De hecho, la absorción y toxicidad de muchos metales muestran una marcada dependencia con la especiación y son frecuentemente correlacionados con la actividad del ión metálico libre (Knight & McGrath, 1995; Parker & Pedler, 1997).

Los procesos de extracción secuencial es una herramienta frecuentemente usada para el establecimiento del fraccionamiento de metales en los suelos (Rauret, 1998; Gleyzes et al., 2002), y nos permite identificar los principales puntos de unión y asociaciones de los elementos traza en los diferentes constituyentes del suelo. Esto permite evaluar la removilización potencial de los metales y el riesgo de su liberación hacia la disolución del suelo (Kaasalainen & Yli-Halla 2003). En adición, se utilizan comúnmente algunos métodos de extracción simple para el estudio de la ecotoxicidad y movilidad de metales en los suelos, es decir, para determinar la fracción de metal biodisponible. Se han utilizado una gran variedad de extractantes, desde ácidos fuertes a disoluciones de sales neutras tamponadas o no tamponadas, o agentes complejantes de metales (Rauret, 1998; Pickering, 1986; Lebourg et al., 1996). Algunos de ellos son ampliamente utilizados, como el EDTA, el DTPA, o la mezcla de acetato amónico/EDTA, que suelen provocar buenas correlaciones entre los metales extraídos y los

absorbidos por las plantas, y son comparados en algunos trabajos como el de Queuvaviller et al. (1996).

3. LA RECUPERACIÓN DE LOS SUELOS CONTAMINADOS

En la "*Thematic Strategy on Soil Protection*" lanzada por la comisión Europea (CEC, 2002) se contempla que los Estados miembros de la UE deberán asegurarse de que se toman acciones para restaurar los espacios contaminados identificados en su territorio nacional. La restauración debe consistir en acciones sobre el suelo que permitan extraer, controlar, contener o reducir los contaminantes de un área determinada, considerando su uso actual y su futuro uso, impidiendo además cualquier riesgo significativo para la salud humana y el medio ambiente. Se asume que todos los espacios contaminados identificados deberán ser restaurados en un tiempo de entre 30-50 años, debiéndose responsabilizar el propio Estado de aquellos lugares sin propietario o en donde no se puedan asumir los costes de la restauración (Directiva 2004/35/EC (CEC, 2004)).

Los objetivos de restauración se definieron en cada "*Estrategia Nacional de Restauración*", y se ordenó la prioridad por la cual los espacios contaminados deben ser recuperados. En España, el PNRSC planteó entre sus objetivos la recuperación de 275 suelos contaminados, dando prioridad a los 61 emplazamientos ya identificados como los de mayor riesgo, y que representan del orden de 38 millones de m^3 de suelo y más de 9 millones de m^3 de aguas subterráneas. El número de emplazamientos que finalmente se consiguieron recuperar fue de 212 (Ministerio de Medio Ambiente – Gabinete de Prensa, 2005), por lo que según los datos recopilados en el PNRSC, más de un 98% de los espacios potencialmente contaminados en España permanecen a la espera de ser recuperados. Las actuaciones realizadas por la Comunidad Autónoma de Galicia a partir del Plan nacional se planificaron a través del "Plan de xestión de residuos perigosos e solos contaminados de Galicia", elaborado en 1995 (Xunta de Galicia, 1995). La ley de residuos del 98 (B.O.E nº 96, 1998) establece que "*la declaración de un suelo como contaminado obligará a realizar las actuaciones necesarias para proceder a su limpieza y recuperación, en la forma y plazos en que determinen las respectivas Comunidades Autónomas*". Además de esto, el Real Decreto 9/2005, de 14 de Enero (B.O.E nº 15, 2005), en su artículo 7, puntualiza que:

- *"El alcance y ejecución de las actuaciones de recuperación será tal que garantice que la contaminación remanente, si la hubiera, se traduzca en niveles de riesgo aceptables de acuerdo con el uso del suelo".*
- "*La recuperación de un suelo contaminado se llevará a cabo aplicando las mejores técnicas disponibles en función de las características de cada caso. Las actuaciones de recuperación deben garantizar que materializan soluciones permanentes, priorizando, en la medida de lo posible, las técnicas de tratamiento in situ que eviten la generación, traslado y eliminación de residuos*".

- "*Siempre que sea posible, la recuperación se orientará a eliminar los focos de contaminación y a reducir la concentración de los contaminantes en el suelo. En el caso de que por razones justificadas de carácter técnico, económico o medioambiental no sea posible esa recuperación, se podrán aceptar soluciones de recuperación tendentes a reducir la exposición, siempre que incluyan medidas de contención o confinamiento de los suelos afectados*".

En la actualidad se dispone de un amplio abanico de tecnologías de recuperación de suelos contaminados con metales pesados, algunas de aplicación habitual y otras todavía en fase experimental. Todas ellas están diseñadas para aislar o eliminar las sustancias contaminantes alterando su estructura química mediante procesos generalmente físico-químicos, térmicos o biológicos (Tabla 5). La Comisión Europea habla del principio de "*Best Available Technology*" (BAT), (Van-Camp et al., 2004), que considera la necesidad de elección de la mejor tecnología disponible para la restauración de un suelo contaminado, así como la necesidad de innovación y desarrollo sobre nuevas tecnologías. Asumiendo que la elección final de la técnica será siempre específica del lugar a descontaminar, el principio BAT recoge un sumario de las etapas, decisiones clave y acciones que se deben llevar a cabo para identificar la técnica de recuperación más adecuada para un espacio contaminado dado (Tabla 6).

Tabla 5 - Principales Tratamientos de suelos contaminados en metales pesados.

Tipo de Tratamiento		Tratamiento	Aplicación
Confinamiento		Estabilización físico-química	Ex situ
		Inyección de solidificantes	In situ
		Vitrificación	Ex situ-In situ
Contención		Barreras verticales	In situ
		Barreras horizontales	In situ
		Barreras de suelo seco	In situ
		Sellado profundo	In situ
		Barreras hidráulicas	In situ
Descontaminación	Físico-Químico	Extracción	In situ
		Lavado	Ex situ
		Flushing	In situ
		Electrocinética	In situ
		Adición de enmiendas	In situ
		Barreras permeables activas	In situ
	Térmico	Incineración	Ex situ
		Desorción térmica	Ex situ
	Biológico	Biotransformación de metales	In situ
		Landfarming	Ex situ
		Biopilas	Ex situ
		Compostaje	Ex situ
		Fitocorrección: • Fitoextracción • Fitoestabilización	In situ

Tabla 6 – Conceptos a considerar para la elección de la mejor tecnología de recuperación disponible en cada caso (principio BAT). (Fuente: Van-Camp et al., 2004)

Principales etapas de valoración de opciones	Decisiones clave de cada etapa	Acciones / Factores a tener en cuenta
Identificación de posibles opciones de restauración (Etapa 1)	1. ¿Qué técnicas de restauración específicas de la posición y qué objetivos deben considerarse a la hora de seleccionar una técnica? 2. ¿Hay suficientes datos? 3. ¿Qué opciones de restauración podrían ser elegidas para realizar una consideración de mayor detalle?	1. Establecer los objetivos de restauración que se pretenden conseguir. 2. Revisar los datos existentes para decidir si hay suficiente información disponible para producir una lista de técnicas de descontaminación potenciales. 3. Producir una pequeña lista de técnicas de descontaminación potenciales usando los siguientes factores: • Es efectiva en relación con la sustancia y sus propiedades? • Es efectiva en relación con la contaminación para el tipo de localización/medio? • Es efectiva y duradera en relación con la contaminación el uso de una estrategia específica preferida (es decir, tratando la fuente, rompiendo las vías de transporte y/o controlando el receptor)?
Llevar a cabo una evaluación en detalle de las opciones de restauración posibles para identificar la "mejor" opción (Etapa 2)	1. ¿Cuál es la mejor opción de restauración? 2. ¿Qué opciones, si es posible, se podrían combinar para producir una estrategia de restauración?	1. Evaluar en detalle si cada una de las opciones listadas es adecuada para conseguir los objetivos en la escala de tiempo requerido y si es posible llevarla a cabo dadas las circunstancias del área en cuestión. 2. Identificar si alguna de las opciones listadas requiere un estudio de tratamiento específico para un sitio para confirmar su efectividad. 3. Establecer la verificación y los requerimientos a largo plazo de la monitorización/ actuación de cada opción listada. 4. Considerar si alguna de las opciones listadas podría ser combinada con otras para conseguir una mayor eficiencia de restauración. 5. Evaluar la técnica de descontaminación usando los siguientes factores: • Practicabilidad – limitaciones técnicas, limitaciones del lugar, limitaciones de tiempo, limitaciones regulatorias, • Impactos ambientales adversos. • Efectividad – disponibilidad de restauración para conseguir los objetivos. • Durabilidad – Cuando la restauración continuará siendo efectiva en la obtención de los objetivos a lo largo del tiempo. • Razonabilidad – consideración de los costes y beneficios de la restauración. En algunos casos, podría resultar difícil identificar las opciones de restauración que reúnan todos los objetivos, en cualquier caso, se necesitarían revisar los criterios u objetivos. En adición, si las opciones de restauración no pueden ser identificadas (por ejemplo porque la tecnología no existe o no es económicamente rentable para hacer algo) será necesario revisar los objetivos de restauración o realizar una monitorización de la situación. 6. Considerar en el caso de que no sea eficiente en el tiempo o en recursos, si se podría conseguir llevando a cabo una combinación de acciones dentro de la estrategia.
Donde sea apropiado, combinar opciones para producir una estrategia de restauración (Etapa 3)	¿Qué combinación de opciones producirían una estrategia de restauración que permitiera reunir todos los objetivos de acuerdo con el lugar a restaurar?	Seleccionar la "mejor" técnica de restauración o combinación de técnicas para descontaminar el lugar.

Otras herramientas útiles en la elección de la técnica de recuperación más apropiada en cada caso fueron dados por la EPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos), que publicó la 4ª edición de "Rutas a Tecnologías para la investigación y descontaminación de suelos contaminados" (EPA, 2005) con la finalidad de proporcionar información y ayudar a

identificar y seleccionar tecnologías innovadoras para la caracterización y descontaminación de suelos. Otra fuente de información de interés es "Technology Tree" (*http://www.cpeo.org/techtree/about.htm*), que dispone de un amplio glosario de términos e información sobre las tecnologías de recuperación y facilita, así mismo, el acceso a bases de datos y a otras fuentes con información adicional.

La elección final de la técnica de restauración, en cualquier caso, depende ampliamente de las características del suelo y de la naturaleza y grado de contaminación, de la disponibilidad de innovación y coste de la técnica, del tiempo estimado para su desarrollo y finalmente de la función o uso que se le quiera dar al área restaurada (Reddy et al., 1999). La preferencia de los tratamientos *"In situ"* deriva generalmente de que suponen unos menores costes y una menor destrucción y alteración del medio, a pesar de que por lo general son más lentos y más difíciles de llevar a la práctica dada la dificultad de poner en contacto íntimo a los agentes de descontaminación con toda la masa de suelo contaminada. Considerando los efectos destructivos del suelo y/o los altos costes de gran parte de los tratamientos físico-químicos y térmicos (Tabla 7), los tratamientos biológicos, mediante el empleo de microorganismos y plantas, se muestran como un conjunto de técnicas prometedoras en la recuperación de los suelos contaminados.

Tabla 7.- Algunas cifras comparativas del coste de distintas técnicas de recuperación de suelos contaminados (Fuente: Glass, 1999).

Tratamiento	Coste ($/ton)	Factores adicionales/gastos
Vitrificación	75-425	Largo periodo de vigilancia
Vertido de tierras	100-500	Transporte/excavación/vigilancia
Tratamiento químico	100-500	Reciclado de contaminantes
Electrocinética	20-200	Vigilancia
Fitoextracción	5-40	Vigilancia

4. LA FITOCORRECCIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS

La fitocorrección engloba un grupo de técnicas emergentes basadas en el uso de especies vegetales y sus microorganismos asociados para extraer, acumular, inmovilizar o transformar los contaminantes del suelo (Figura 4) (Barceló & Poschenrieder, 2003; Ghosh & Singh, 2005; Pilon-Smits, 2005).

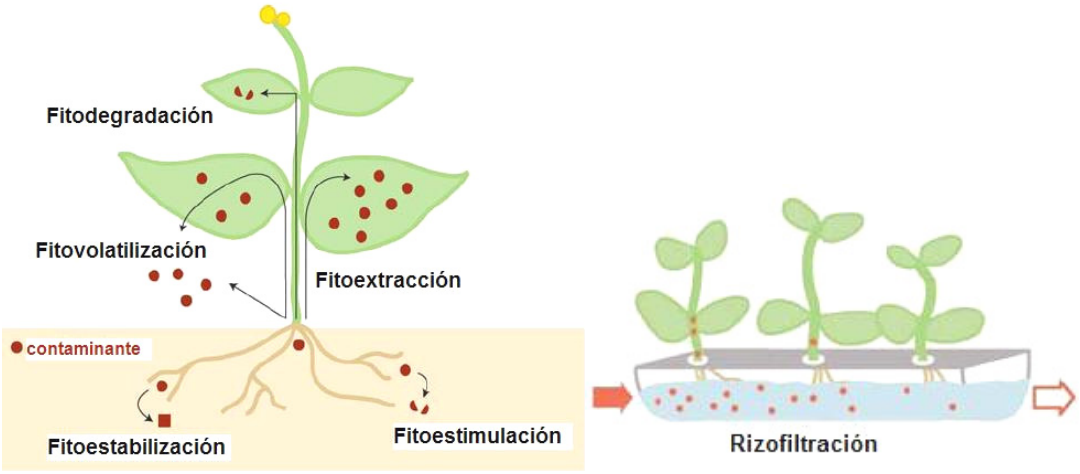

Figura 4.- Representación esquemática de los distintos mecanismos de fitocorrección. El contaminante puede ser estabilizado o degradado en la rizosfera, secuestrado o degradado dentro de la planta, o volatilizado (Fuente: Pilon-Smits, 2005).

La fitoextracción, también llamada fitoacumulación, emplea la capacidad de las plantas para absorber y extraer el contaminante del suelo, principalmente metales, y acumularlo en sus tallos y hojas. Las partes de las plantas donde se acumula el contaminante pueden ser extraídas y destruidas o recicladas, retirando el metal del suelo (Kumar et al., 1995; Cunningham et al., 1995; Salt et al., 1998; Saxena et al., 1999). Para considerar viable el proceso es importante que la acumulación del contaminante tenga lugar en la parte aérea de la planta, fácilmente cosechable, aunque algunos autores consideraron la extracción de las raíces como una opción también viable en algunos casos (Entry et al., 1996; Dickinson & Pulford, 2005). Existen plantas que presentan una acumulación extrema de metales en sus tejidos aéreos, que se conocen como plantas hiperacumuladoras (Brooks, 1998), y que son preferentemente utilizadas en este tipo de técnicas.

La fitoestabilización consiste en la inmovilización y reducción de la biodisponibilidad de los contaminantes mediante la revegetación de los espacios contaminados con especies vegetales tolerantes, reduciendo el riesgo para el medio ambiente y la salud humana. El contaminante no es extraído del medio, pero el proceso implica una mejora mecánica de las propiedades físicas del suelo y su protección frente a la erosión y el transporte de contaminantes (Vangronsveld & Cunningham, 1998). El proceso se completa con la adición de enmiendas al suelo que provocan una adsorción o precipitación del contaminante, y en ocasiones se habla de fitoinmovilización y biomineralización para designar los procesos biogeoquímicos naturales de formación de depósitos minerales (Kalin, 2002). El control fitohidráulico para prevenir el lixiviado de los contaminantes en el perfil de los suelos y la producción de una cubierta vegetativa son procesos similares que en ocasiones se distinguen como un proceso diferente, conocido como fitocontención, que engloba el uso de plantas, generalmente especies arbóreas con altas tasas de transpiración (ej. *Populus*), para controlar y manipular el balance de aguas

con altas tasas de transpiración (ej. *Populus*), para controlar y manipular el balance de aguas de la capa superficial mediante la evapotranspiración (Strand et al., 1995; Cunningham et al., 1996; Schnoor, 1997a; Schnoor, 2002; Trapp & Karlson, 2001).

La rizofiltración se basa en que algunas plantas acuáticas, de humedales, algas, bacterias y hongos, resultan ser buenos biosorbentes de metales mediante su absorción a partir de aguas contaminadas a través de sus raíces (Ej. *Typha, Phragmatites*). A principios de los 90, se abrieron nuevas perspectivas con el uso también de plantas terrestres que se habían desarrollado en cultivos hidropónicos y que permitía unos sistemas radiculares más extensos para "filtrar", adsorber y absorber metales desde medios acuáticos (Raskin et al., 1994; Dushenkov et al., 1995; Dushenkov & Kapulnik, 2000). Las plantas jóvenes germinadas que se encuentran creciendo en cultivos acuáticos son también efectivas, y surgió un nuevo concepto, la Blastofiltración (Dushenkov & Kapulnik, 2000). Aunque los estudios en este sentido son prometedores, la limpieza a gran escala usando la rizofiltración y otros procesos de sorpción permanecen sin ser demostrados excepto para algunas aplicaciones limitadas (Woverton & Woverton, 2001; Todd & Josephson, 1996).

La fitovolatilización o biovolatilización es una transferencia de contaminantes desde el suelo o agua hacia la atmósfera, sirviendo las plantas de intermediario (Terry et al., 1995; Cunningham & Ow, 1996). Este proceso engloba la absorción y transformación o reespeciación de los contaminantes hacia formas volátiles, que son finalmente emitidas a través de las raíces, tallos u hojas. Aunque esta técnica parece fundamentalmente útil para contaminantes orgánicos, existen varios trabajos que muestran el potencial de determinadas plantas para volatilizar y eliminar metaloides como el Selenio (Terry et al., 1992; Terry & Zayed, 1994) y contaminantes metálicos como el Mercurio (Meagher & Rugh, 1996; Rugh et al., 1996) o el Arsénico (CH2M Hill, 2001).

Existen otras técnicas especialmente adecuadas para contaminantes orgánicos, como la fitoestimulación o rizodegradación, basada en la exudación por parte de las raíces de compuestos orgánicos y nutrientes que estimulan el crecimiento microbiano en la rizosfera (Schnoor, 2000). La alta concentración microbiana parece incrementar las tasas de eliminación de una amplia variedad de compuestos orgánicos contaminantes (Schnoor, 1997b; Olson et al., 2003; Eberts et al., 2003; Ronchel & Ramos, 2001). La fitodegradación, fitotransformación, fitoreducción, fitooxidación, o fitolignificación son otros conceptos que engloban también la degradación biológica completa o mineralización de compuestos xenobióticos y/o la transformación de las mismas sustancias a lo largo de distintas vías, aunque en este caso, a diferencia de la rizodegradación, los contaminantes son metabolizados dentro de los tejidos vegetales mediante la actuación de encimas como la deshalogenasa o la oxigenasa, y no en el entorno de las raíces en contribución con las poblaciones microbianas (Burken, 2003; Cunningham et al., 1996).

En la tabla 8 se resumen las ventajas y desventajas de la aplicación de estas técnicas de fitocorrección, especialmente de la fitoextracción, como mecanismo de limpieza de suelos contaminados. En general, todas las técnicas de fitocorrección se presentan como mecanismos de descontaminación económicos, estéticos y efectivos en grandes áreas de terreno contaminado, aunque actualmente su eficacia se ha demostrado en pocas ocasiones bajo condiciones de campo. La fitocorrección es todavía una técnica emergente que requiere más estudios para optimizar el proceso y subsanar las limitaciones existentes. En este sentido, se plantea el uso de tratamientos adicionales, como el bombeo o la irrigación con las aguas subterráneas contaminadas más profundas para reducir la limitación de la profundidad de las raíces, la inducción de la absorción de los metales más raramente acumulados mediante la adición de agentes quelantes, o la colocación de vallas perimetrales o redes sobre la parte aérea para prevenir el herbivorismo.

Tabla 8.- Principales ventajas y limitaciones de las tecnologías de fitocorrección (Fuente: Alkorta et al., 2004. Entre paréntesis se muestran otras referencias para cada aspecto).

Ventajas	Limitaciones
Aplicable a una amplia variedad de contaminantes inorgánicos y orgánicos.	Limitada por la profundidad (raíces) y solubilidad y disponibilidad de los contaminantes (Schoor et al., 1995).
Reduce la cantidad de residuos llevados a vertederos.	Aunque es más rápido que la atenuación natural, requiere elevados periodos de tiempo (varios años).
No requiere un equipamiento caro o altamente especializado.	Generalmente está restringida a zonas con una concentración de contaminantes de baja a moderada (salvo la fitoestabilización).
Puede ser aplicado "*in situ*". Reduce la perturbación del suelo y la diseminación de contaminantes.	La biomasa de las plantas procedentes de la fitoextracción requieren de un vertido apropiado como residuo peligroso (Angle & Linacre, 2005)
Las primeras estimas de los costes indican que la fitocorrección es más barata que los métodos de limpieza convencionales (Salt et al., 1995; Cunninhang & Berti, 2000; Glass, 1999).	Depende del clima y las estaciones. En adición puede perder su efectividad a causa de los daños sobre la vegetación por enfermedades o pestes.
Fácil de ejecutar y mantener. Las plantas son baratas y renovables, fácilmente disponibles.	Introducción de especies de plantas inapropiadas o invasivas (no nativas) podrían afectar a la biodiversidad (Angle & Linacre, 2005).
Ambientalmente respetuosa, estéticamente atractiva y socialmente aceptada (Wolfe & Bjornstas, 2002).	Los contaminantes podrían ser transferidos a otro medio, al ambiente o a la cadena trófica (Angle & Linacre, 2005).
Menos ruidoso que otros métodos de limpieza. Realmente los árboles reducen el ruido de las actividades industriales.	Las enmiendas y las prácticas agronómicas pueden tener consecuencias negativas en la movilidad de los contaminantes (Angle & Linacre, 2005).

Fitoextracción de metales pesados

La fitoextracción de metales pesados es una de las técnicas más prometedoras para su comercialización, apareciendo las primeras patentes en Japón en 1980 (Cunninghan et al., 1995) y en USA en 1994 (Raskin et al., 1994). Su aplicación se basa en el uso de plantas que poseen una capacidad natural por encima de lo usual para absorber y concentrar en sus partes aéreas determinados metales pesados (principalmente As, Cd, Co, Ni, Se o Zn) sin desarrollar síntomas de toxicidad.

El término de "hiperacumulación" fue empleado por primera vez por Brooks y Reeves en 1977 para designar a plantas que crecían sobre suelos serpentiníticos capaces de acumular más de 1000 mg/kg de Ni. Actualmente se consideran hiperacumuladoras las plantas que acumulan en su biomasa aérea más de 1000 mg/kg de Co, Cu, Ni, Pb o Se, más de 10000 mg/kg de Mn o Zn o más de 100 mg/kg de Cd (Baker & Brooks, 1989; Brooks, 1998; Baker et al., 2000). La gran mayoría de las especies hiperacumuladoras conocidas pertenecen a comunidades vegetales características de suelos naturalmente ricos en metales, donde están perfectamente adaptadas a las condiciones ambientales particulares de su hábitat (Brooks, 1998; Reeves, 1992). Existen varias hipótesis para explicar la alta acumulación de metales en este tipo de plantas, como la absorción inadvertida, la tolerancia a metales, resistencia a la sequía, resistencia contra herbívoros/patógenos y la interferencia con las plantas vecinas (alelopatía) (Boyd & Martens, 1992; Macnair, 2003). Esta última hipótesis parece desmentirse tras los últimos ensayos llevados a cabo sobre el hiperacumulador de Ni *Alyssum murale* por Zhang et al., 2007, mientras que la hipótesis de la resistencia contra herbívoros/patógenos cobra fuerza (Boyd et al., 1994; Pollard & Baker, 1997; Poschenrieder et al., 2006).

El uso de plantas hiperacumuladoras para la fitoextracción de metales en suelos contaminados fue propuesto en primer lugar por Chaney en 1983. Sin embargo, a pesar de la gran expectación causada, la eficacia de este tipo de plantas en fitoextracción ha sido probada en muy pocas ocasiones en condiciones de campo. Algunos trabajos han mostrado una fitoextracción efectiva en suelos contaminados en Zn y Cd por parte de los hiperacumuladores *T. caerulescens* y *A. halleri* (McGrath et al., 1993; Baker et al., 1994; Robinson et al., 1998). Más recientemente, Zhao et al. (2003) demostraron que la fitoextracción de Zn y Cd por *T. caerulescens* es sólo eficiente en suelos moderadamente contaminados, ya que el factor de bioconcentración de Zn ([parte aérea]:[suelo]), que es una medida de la capacidad de la planta para absorber y transportar el metal del suelo hacia las partes fácilmente cosechables, varía desde 30 en suelos moderadamente contaminados, hasta 1 cuando la planta crece en suelos con una alta contaminación de Zn. Por su parte, un grupo de científicos de las Universidades de Maryland (USA) y Sheffield (UK) dirigidos por Chaney han desarrollado diferentes estudios para determinar los requisitos de una fitoextracción comercial de Ni con especies del género *Alyssum*, consiguiendo desarrollar una tecnología patentada (Chaney et al., 1998; Li et al.,

2003; Chaney et al., 2005), y una fitoextracción de Zn y Cd con cultivares mejorados de *T. caerulescens* (Chaney et al., 1995; Synkowski, 2004; Chaney et al., 2005).

Las grandes limitaciones del uso de plantas hiperacumuladoras en los procesos de fitoextracción derivan, en primer lugar, de la escasez de especies potencialmente utililizables. Actualmente se han identificado unas 400 especies hiperacumuladoras (320 especies hiperacumulan Ni, 30 especies Co, 34 especies Cu, 20 especies Se, 14 especies Pb, 1 especie Cd, 11 especies Zn y 10 especies Mn) pertenecientes a 45 familias, aunque las familias Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae y Euphobiaceae engloban la mayor parte de ellas (Baker & Brooks, 1989; Reeves y Baker, 2000; Prasad & Freitas, 2003). Ello supone menos de un 0.2 % de todas las angiospermas (Brooks, 1998; Baker et al., 2000), aunque la lista de especies continúa creciendo, y en los últimos años se ha identificado a *Pityrogramma calomelanos* y varias especies del género *Pteris*, todas pertenecientes al orden Pteridales, como hiperacumuladoras de As (Ma et al., 2001; Francesconi et al., 2002; Zhao et al. 2002), así como a *Alyssum bracteatum* como hiperacumuladora de Ni (Ghaderian et al., 2007). En adición, la mayor parte de las plantas identificadas como hiperacumuladoras acumulan un único metal, y la hiperacumulación de varios metales, tal y como se produce en *Thlaspi caerulescens* (Zn y Cd) o *Arabidopsis halleri* (Zn y Cd) no es frecuente. Algunos de los metales tóxicos no son además acumulados en ninguna especie o lo hacen en muy pocas de ellas (como por ejemplo Cr y Pb). Finalmente, el éxito de la fitoextracción con especies hiperacumuladoras se ha visto reducido en la mayor parte de los casos por la escasa biomasa que normalmente alcanzan estas especies, incluido el más estudiado de ellos, el *T. caerulescens*, con una producción en su parte aérea de 2-5 t ha^{-1} de materia seca (McGrafth et al. 2002). No obstante, la existencia de algunas excepciones de hiperacumuladores que presentan gran producción de biomasa, como el hiperacumulador de Ni *Berkheya coddii* (Robinson et al., 1997) o el hiperacumulador de Zn *Sedum alfredii* (Long et al.; 2002) implica que no existe una razón intrínseca por la cual todas las plantas hiperacumuladoras y/o tolerantes a altas concentraciones de metales sean competitivamente inferiores o de crecimiento lento (Macnair et al., 2000; Harper et al., 1997). En cualquier caso, la producción de una elevada biomasa por parte de plantas hiperacumuladoras podría minimizar ampliamente el tiempo empleado en la fitoextracción (Figura 5) (McGrath & Zhao, 2003).

Este tipo de limitaciones ha potenciado el uso de especies agronómicas, como legumbres/cereales y especies arbóreas metaltolerantes de elevada biomasa, como una alternativa al uso de especies silvestres hiperacumuladoras (Keller & Hammer, 2005). Estas especies presentan un menor factor de bioacumulación, pero sus requerimientos agronómicos son mejor conocidos y la elevada producción de biomasa incrementa la cantidad total de metal extraído. Al contrario que en hiperacumuladoras, en este caso existe una gran cantidad de especies y cultivares que pueden ser probados de acuerdo con las características del lugar y la

tolerancia al metal. En algunos casos se han encontrado resultados prometedores. Ebbs et al. (1997), por ejemplo, mostraron en un ensayo de invernadero que líneas seleccionadas de *B. juncea* eran capaces de extraer Zn de un suelo contaminado más eficientemente que el conocido hiperacumulador *T. caerulescens*, a pesar de que la concentración alcanzada en sus tejidos era una tercera parte. Greger & Landberg (1999) demostraron, así mismo, que *Salix viminalis* extraía mayor cantidad de Cd que *Thlaspi caerulescens* y *Alyssum murale,* dado que la producción de biomasa de *Salix* (sobre 10 veces mayor que las otras dos especies) compensaba la menor acumulación. Este tipo de trabajos ha despertado un especial interés sobre las especies arbóreas tolerantes a altas concentraciones de metales, tanto para procesos de fitoextracción como de fitoestabilización (Pulford & Watson, 2003), siendo una opción económicamente atractiva (Keller, 2006; Dickinson & Pulford, 2005; Meers et al., 2003; Keller & Hammer, 2005).

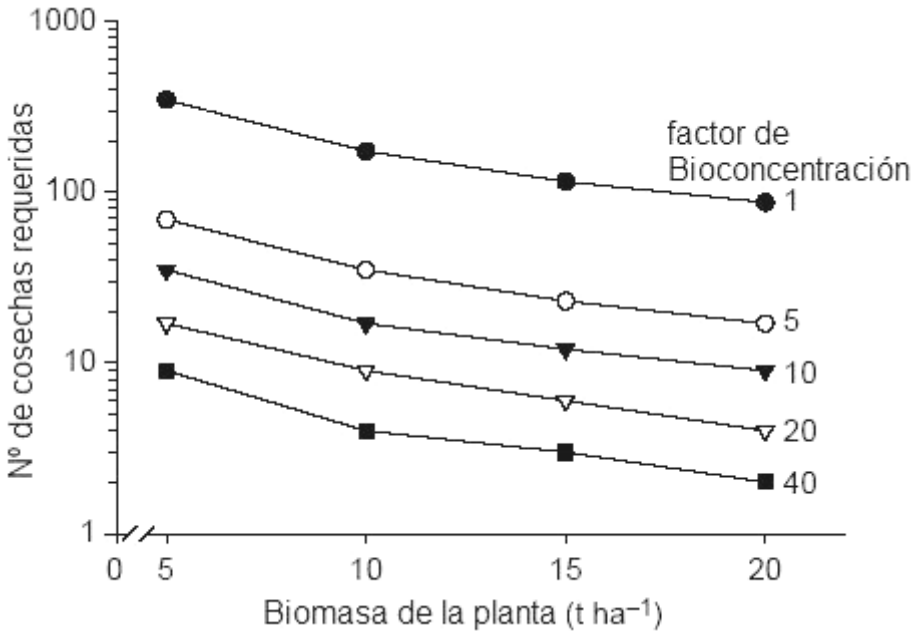

Figura 5. – Estimación del número de cosechas requeridas para reducir a la mitad la concentración de metales en la capa superficial del suelo (20 cm) en función de la biomasa producida y del factor de bioconcentración alcanzado por la planta (Fuente: McGrath & Zhao, 2003).

Fitoestabilización de metales pesados

La fitoextracción de metales no es la mejor opción en grandes espacios de terreno con altos niveles de contaminación, debido fundamentalmente a limitaciones técnicas y financieras así como a la inhibición del crecimiento y descenso de la productividad de las plantas (Ernst, 1996). La fitoestabilización de los elementos contaminantes *"in situ"* es a veces la mejor alternativa, y en ocasiones se puede considerar como una medida temporal hasta que pueda

llevarse a cabo una limpieza del suelo (Remon et al., 2005; Arienzo et al., 2004; Raskin & Ensley, 2000). La fitoestabilización no consigue una extracción del metal, pero reduce su movilidad y biodisponibilidad al alterar la especiación y disminuye el impacto ambiental potencial. En adición, mejora las características químicas y biológicas de los suelos contaminados (contenido en materia orgánica, nivel de nutrientes, capacidad de intercambio de cationes, actividad biológica) que aceleran el desarrollo de un ciclo de nutrientes viable y una cubierta vegetal sostenible, lo que permite la restauración del área afectada hasta condiciones aceptables para un uso secundario del terreno (Norland & Veith, 1995; Robinson et al., 2006).

La estabilidad de los contaminantes se consigue mediante una combinación de la actividad radicular de las plantas y su microflora asociada con la adición de enmiendas al suelo, lo que promueve la formación de complejos metálicos insolubles que reducen su movilidad y disponibilidad biológica (Vangronsveld et al., 1991, 1993; Berti & Cunningham, 2000; Lothenbach et al., 1998). Las raíces de las plantas producen cambios en la especiación de metales al producir variaciones en el potencial redox, secreción de protones, secreción de agentes quelantes, etc. Gran parte de los iones metálicos son adsorbidos físicamente a superficies externas de las paredes celulares cargadas negativamente (Lasat, 2002), o por enlaces químicos (ej. Pb-O, Marmiroli et al., 2005), mientras que otra gran parte son absorbidos y secuestrados dentro de estructuras celulares en las raíces (ej. vacuolas), lo que los convierte en formas no disponibles para la translocación a la parte aérea (Lasat et al., 1998). El crecimiento de las plantas produce además una estabilización física del suelo superficial y evita su erosión (Vandenhove, 2000), reduciendo la generación de polvo, la movilidad de metales y radionucleidos y las respectivas vías de exposición. Finalmente, la tasa de infiltración del agua de lluvia también se ve reducida por el incremento de la evapotranspiración inducida por las plantas, reduciendo la lixiviación potencial y la generación de posibles drenajes ácidos (Van de vivere, 2000; Stanley 2002; Stanlye et al., 2000; Pulford & Watson, 2003). Por su parte, determinadas enmiendas como la adición de materia orgánica al suelo, el ajuste de pH, o la adición de algunos complejantes como zeolitas, beringita, fosfatos (hidroxiapatito), carbonatos, etc., promueven la inmovilización de elementos tóxicos como As, Cd, Pb y Zn (Schoor, 2000; Malamed et al., 2003). El incremento de pH puede resultar efectivo en la reducción de la biodisponibilidad de metales pesados (Walendzik, 1993), aunque el encalado podría producir un incremento en la tasa de mineralización del N y el lixiviado de NO_3 hacia las aguas (Marschner et al., 1989; Kreutzer, 1995). La adición de lodos municipales, compost y otros residuos orgánicos suele mejorar el establecimiento y crecimiento de algunas especies al reducir igualmente la toxicidad de los metales (Sabey et al., 1990; Bradshaw, 2000; Tordoff et al., 2000; Rizzi et al., 2004). También la adición de sustancias húmicas y zeolitas (Baydina, 1996; Oste et al., 2002), así como material arcilloso (Figge et al., 1995), favorece la complejación de los metales contaminantes. Las sustancias orgánicas añadidas, no obstante, deberán ser insolubles para evitar su rápida degradación por microorganismos (Herms & Brümmer, 1984) y la formación de complejos organometálicos solubles.

A diferencia de la fitoextracción, las plantas idóneas para su uso en la fitoestabilización son aquellas tolerantes a altas concentraciones de metales pero que no absorben ni movilizan los contaminantes, limitando la absorción por las raíces y/o evitando su translocación a la parte aérea ([raíz]:[suelo] <1 y/o [hojas]:[raíz] < 1). Ello reduce la exposición del contaminante y el riesgo de su introducción en la cadena trófica. También son consideraciones importantes el empleo de plantas tolerantes a otras condiciones inherentes del área a restaurar, como el pH inadecuado del suelo, la salinidad, la estructura del suelo, el contenido en agua y carencia de nutrientes y materia orgánica. Adicionalmente, las plantas deben crecer rápidamente para establecer una rápida cubierta vegetal y poseer un sistema radicular y una cobertura aérea densas. Hasta la fecha se han utilizado frecuentemente herbáceas metal-tolerantes de rápido crecimiento; son numerosos lo estudios con especies de la familia *Poaceae,* como el género *Lolium* (Arienzo et al., 2004; Rizzi et al., 2004), *Festuca* (Rizzi et al., 2004) y *Agrostis sp*. (Karataglis, 1982). Existe bastante bibliografía que caracteriza los diferentes mecanismos de tolerancia y procesos de complejación de metales en raíces y tejidos de estas plantas (Prasad, 2006). Otra especie ampliamente utilizada en la revegetación de minas por su efectividad en el control de la erosión y sedimentación es *Vetiveria zizanioides* (Truong & Baker, 1996; Truong, 1999; Xia & Shu, 2001; Shu et al., 2002). Esta planta tiene características únicas de adaptación a suelos extremos y variaciones climáticas, gran tolerancia a elevadas concentraciones de metales en suelos y aguas (con una estrategia de exclusión (Baker, 1981)), no es invasiva, presenta un crecimiento rápido y elevada biomasa y posee un sistema radicular denso (3-4 m en el primer año). Hay, en adición, algunos estudios sobre la optimización de su crecimiento mediante fertilización (Rotkittikhun et al., 2007). Por otra parte, se ha propuesto también la utilización de especies arbóreas en las técnicas de fitoestabilización, ya que su crecimiento puede llegar a provocar considerables beneficios potenciales, resultando en la estabilización del suelo y/o el contaminante (Mertens et al., 2004; Pulford & Dickinson, 2006). La protección obtenida simplemente por la presencia de una gran biomasa aérea puede resultar en un descenso de la erosión del suelo por viento y agua (Johnson et al., 1992). En adición, se puede acumular una capa de hojas sobre la superficie del suelo, formando una barrera que puede ayudar igualmente a la estabilización física del suelo. El sistema radicular de los árboles puede mantener unido eficientemente el suelo (Stomp et al., 1993) y además absorben grandes cantidades de agua que reduce el lixiviado potencial de los metales del suelo hasta en un 16% respecto a una cobertura con herbáceas (Pulford & Watson, 2003; Garten, 1999).

La fitoestabilización de determinados metales pesados se muestra como una tecnología de restauración de suelos ampliamente prometedora. La adición de complejantes en combinación con una revegetación del terreno podría resultar muy efectiva en la estabilización del Pb (Chaney & Ryan, 1994; Berti & Cunningham, 1997). Así, por ejemplo, se ha visto que el crecimiento de *Agrostis capillaris* sobre residuos mineros altamente contaminados en Pb/Zn permite una precipitación del Pb en forma de piromorfita (fosfato de Pb) tras la adición de

fosfatos, aunque los mecanismos aun son desconocidos (Cotter-Howells & Caporn, 1996). Por su parte, la reducción en las raíces más profundas de Cr^{+6} a Cr^{+3}, que es insoluble y sin riesgo ambiental (James, 1996), parece muy efectivo e igualmente prometedor (Chaney et al., 1997; Shanker et al., 2003). Tanto la precipitación de fosfato de Pb en la rizosfera como la reducción de Cr^{+6} a Cr^{+3} se ha detectado también en especies arbóreas (James, 2001; Cotter-Howells et al., 1994). La eficiencia del empleo de una cubierta arbórea complementando el uso de varias enmiendas del suelo, incluyendo alcalinización, adición de zeolitas, beringita y materia orgánica ha sido demostrada también en distintas ocasiones (Lepp & Dickinson, 2003; Geebelen et al., 2003; Mench et al., 2006a; Mench et al., 2006b). Otros ejemplos de la efectividad de la fitoestabilización fueron dados por Römkens et al. (1999), que mostraron un descenso significativo de la solubilidad del Cu en la rizosfera de *Agrostis capillaris* y Turpeinen et al. (2000) que mostraron como la solubilidad de Pb se redujo por encima del 93% por el efecto de plántulas de pino. Adicionalmente, la revegetación es una de las prácticas más habituales en la restauración de residuos mineros, y existen muchas investigaciones bien documentadas sobre la estabilización de metales pesados en estos espacios (Bradshaw & Chadwick, 1980; Rizzi et al., 2004; Wong, 2003; Prasad et al., 2006). La selección de las especies de plantas apropiadas podría ser muy importante para conseguir una cubierta de vegetación sostenible (Tordoff et al., 2000; Bleeker et al., 2002; Wong, 2003; Freitas et al., 2004), y en muchos casos se habla de la conveniencia de utilizar plantas nativas bien adaptadas al medio y que colonizan naturalmente el suelo minero (Remon et al., 2005; Conesa et al., 2007; Frérot et al., 2006).

5. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE FITOCORRECCIÓN. VÍAS DE INVESTIGACIÓN

Durante la última década han aparecido nuevos trabajos que estudian la evolución y optimización de los procesos de fitocorrección de suelos contaminados en metales pesados (Ow, 1996; Raskin, 1996; Salt et al., 1998; Pletsch et al., 1999), centrándose principalmente en los siguientes aspectos (Cunningham & Ow, 1996, Raskin, 1996, InterCOST, 2000):

- Identificar, seleccionar y optimizar plantas candidatas por selección genética y otras actuaciones.
- Optimizar los usos agronómicos y silvícolas de fertilizantes, irrigación, control de pestes y otras prácticas sobre plantas hiperacumuladoras.
- Manipulación rizosférica mediante la selección de raíces, tratamiento con enmiendas, e inoculación con bacterias y hongos seleccionados.
- Ampliar el conocimiento sobre el uso metabólico e ingeniería genética para crear plantas transgénicas económicamente rentables.

Búsqueda geobotánica y prospección biogeoquímica de nuevas especies

La identificación de nuevas especies vegetales acumuladoras de metales incrementa el número de plantas potencialmente candidatas para ser empleadas en procesos de fitoextracción, ampliando la posibilidad de seleccionar nuevas plantas capaces de tolerar diferentes metales y condiciones del suelo (pH, salinidad, estructura del suelo, contenido en agua, etc.), con facilidad para establecerse en diferentes zonas y con resistencia a diferentes enfermedades y al ataque de insectos (Brooks, 1998).

Las plantas hiperacumuladoras hasta ahora conocidas pertenecen a comunidades vegetales específicas adaptadas a ambientes con altos niveles de metales en el suelo (Maywald & Weigel, 1997). Reeves & Baker (2000) indican la existencia de cuatro tipos principales de suelos metalíferos que albergan a las plantas hiperacumuladoras: suelos serpentiníticos, derivados de rocas ultramáficas ricas en Fe y Mg; suelos seleníferos, derivados de algunos tipos de rocas ricas en Se; suelos calaminos, enriquecidos con Zn, Cd y Pb; y suelos ricos en Co y Cu, derivados de argilitas y dolomitas. Considerando la diversidad de plantas y sus respuestas a diferentes niveles de metales, la prospección de la biodiversidad en este tipo de ecosistemas podría permitir la identificación de nuevas plantas silvestres que podrían ser utilizadas en técnicas de fitocorrección. En este sentido, los suelos serpentiníticos funcionan como una importante fuente de plantas hiperacumuladora ya que se distribuyen por todo el mundo, ocupando alrededor del 1% de la superficie terrestre (Menezes de Sequeiro & Pinto da Silva, 1992). Las comunidades de plantas serpentinícolas presentan un gran grupo de hiperacumuladores y son, por tanto, de especial interés para la búsqueda de nuevas especies (no necesariamente hiperacumuladoras) adaptadas a altos niveles de metales en suelo y con una gran capacidad de acumulación de metales en sus tejidos (Brooks, 1987). En la Península Ibérica, por ejemplo, existen tres áreas serpentiníticas (en A Coruña, Tras-Os Montes y en Málaga) caracterizadas por poseer unos contenidos anormalmente elevados de oligoelementos como Ni, Cr, Cu y Co (Brooks, 1987; Roberts & Proctor, 1992). Estos contenidos metálicos superan en muchos casos los valores considerados como críticos por la CEC (Commission of the European Communities) (1986) y producen fitotoxicidad en la mayoría de plantas "normales" no adaptadas a este tipo de ambientes.

Muchas áreas con depósitos metálicos cubiertas por plantas metal-tolerantes ubicuas, como las zonas mineras, también pueden ser fuente de plantas con uso potencial en técnicas de fitocorrección. En estos ambientes, la diversidad vegetal y la presencia de genes tolerantes a metales suele ser baja, pero el estrés de la contaminación metálica facilita la selección de poblaciones tolerantes frente a las no tolerantes dentro de la misma especie (Baker & Proctor, 1990; Wu, 1990; Shu et al., 2002; Molitor et al., 2005). Numerosos autores analizaron los patrones de acumulación de metales en plantas capaces de crecer en zonas mineras con elevados contenidos en metales, indicando su posible uso en procesos de fitocorrección

(Freitas et al., 2004; Leita et al., 1989, 1998; Melendo et al., 2002; Flores-Tavizón et al., 2003; Alvarenga et al., 2004; Henriques & Fernández, 1991; Conesa et al., 2006; Alvarez et al., 2003; Becerril et al., 2007). La detección de especies hiperacumuladoras ha sido escasa, pero la identificación de especies vegetales "hipertolerantes" a elevados niveles de metales en los suelos incrementa las expectativas de éxito de los procesos de fitocorrección de suelos contaminados.

Por último, las plantas ornamentales de áreas urbanas también constituyen una fuente potencial de especies útiles en procesos de fitocorrección. Se ha comprobado, por ejemplo, que las hojas de *Nerium oleander* acumulan en áreas urbanas de Portugal más de 78 mg Pb kg^{-1} de peso seco (Freitas et al., 1991). Otra planta en la que se ha encontrado alta acumulación de Pb es *Canna x generalis,* que además produce una apreciable cantidad de biomasa que la hace interesante para procesos de fitoextracción (Trampczynska et al., 2001). Por su parte, se ha identificado a los geranios (*Pelargonium sp*.) como plantas eficientes en hiperacumulación; en ensayos de invernadero fueron capaces de absorber Pb, Cd y Ni hasta concentraciones de 9, 2.7 y 1.9 %, respectivamente, en un tiempo relativamente corto (Saxena et al., 1999).

Mejora del proceso mediante prácticas agronómicas

La fertilización y las variaciones de pH en los suelos, la adición de materia orgánica y quelantes (absorción inducida), el uso de herbicidas y pesticidas, los procesos de germinación de semillas, la plantación, la irrigación con agua y el período de cosechado pueden ser factores importantes para una aplicación eficiente de la fitocorrección (Schnoor, 1997b; ITRC, 1999; Thomas & Buck, 1999).

La acidez del suelo influye en el desarrollo vegetal y en la movilización y solubilización de los metales pesados y en su absorción por las plantas (Gamble, 1986; Hofstede & Ho, 1991; Laperche et al., 1997; Brown et al., 1994). Por ello, el ajuste del pH del suelo mediante el uso de enmiendas podría ser empleado para optimizar el proceso de fitocorrección y modificar el nivel de acumulación en las plantas. Los diferentes suelos presentan respuestas diferentes a la modificación del pH y deben de existir valores de pH óptimos para las distintas plantas y metales. En ensayos de invernadero, *Thlaspi caerulescens*, por ejemplo, incrementaba su acumulación de Zn y Cd con el descenso del pH. En suelos con alto contenido en metales, la mayor producción de biomasa se encontraba al pH más bajo ensayado (4.74), mientras que las mayores concentraciones de metales se encontraron en el segundo nivel de pH utilizado (5.27) (Wang et al., 2006). Contrariamente, algunas especies hiperacumuladoras de Ni y Co del género *Alyssum* exhiben un incremento tanto en su biomasa como en la acumulación de Ni en la parte aérea al incrementarse el pH del suelo desde valores ácidos a valores cercanos a la neutralidad, a pesar de observarse un descenso en la fracción de Ni soluble en el suelo (Li et

al., 2003a, 2003b, Kukier et al., 2004; Everhart et al., 2006). Los procesos involucrados en este patrón inusual de acumulación de Ni en respuesta a las variaciones de pH en *Alyssum spp.* permanecen ampliamente desconocidos, aunque se han propuesto distintas hipótesis (Li et al., 2003b).

La adición de fertilizantes comerciales inorgánicos (fundamentalmente N, P y K) permite también, generalmente, incrementar la producción de biomasa anual en las plantas y mejorar la eficiencia de fitoextracción. Algunos ejemplos sobre plantas hiperacumuladoras fueron mostrados por Robinson et al. (1997), que consiguieron aumentar más de 2 veces la biomasa de *Alyssum bertolonii* (hasta 9 t ha^{-1}) mediante la fertilización con NPK; Bennett et al. (1998), que mostraron el incremento de biomasa de *Alyssum bertolonii, Streptanthus polygaloides* y *Thaspi caerulescens* tras la adición de N (aunque no encontraron diferencias con la adición de P); Li et al., (2003a), que encontraron un incremento significativo de la biomasa de dos especies de *Alyssum* con la aplicación de N; o Kidd & Monterroso (2005), que incrementaron en 10 veces la biomasa de *Alyssum serpyllifolium* subsp. *lusitanicum* sobre suelos de mina. La adición de fertilizantes no sólo juega un papel importante en el incremento de la fertilidad del suelo y de la producción, sino que en algunas ocasiones puede afectar a la acumulación de metales por las plantas. *Alyssum bertolonii* y *Thlaspi caerulescens*, por ejemplo, ven reducida la concentración en su parte aérea de Ni y Zn/Cd, respectivamente, por un efecto de dilución causado por el incremento de biomasa (Bennett et al., 1998; Schwartz et al., 2003; Sirguey et al., 2006), aunque parece que los resultados observados dependen del tipo de suelo, condiciones climáticas, tipo y cantidad de fertilizante aplicado, especies de plantas creciendo en el suelo y el carácter de los procesos microbiológicos. En adición, los fertilizantes pueden afectar específicamente a la solubilidad y bioacumulación de metales, al provocar generalmente variaciones en el pH y una alteración de la composición iónica del suelo. Se demostró, por ejemplo, que el Cu es capaz de formar complejos Cu-NH_4 que son muy móviles en el suelo (Panin & Gulkina, 2005), llegándose a encontrar altas correlaciones entre el N añadido y la concentración de metales como Cu y Zn en la parte aérea de las plantas (Pederson et al., 2002). Otro ejemplo puede ser la formación de complejos de Cd con el Cl^- y el SO_4^{-2} tras la adición de KCl o K_2SO_4, que incrementó su biodisponibilidad y su absorción (Zhao et al., 2004; Norvell et al., 2000). En adición, la utilización de compuestos competidores por los sitios de adsorción de iones metálicos en el suelo, como pueden ser los fosfatos, podrían incrementar la disolución de algunos metales y metaloides con comportamientos similares, como Cr, Se y As, incrementando su biodisponibilidad y la eficiencia de fitoextracción (Adriano, 2001; Smith et al., 2002). En este sentido, Jankong et al. (2007) concluyó que la fertilización de P es un factor importante para inducir la fitoextracción de As por la hiperacumuladora *Pteris calomelanos*, al incrementar la biomasa de la planta y la acumulación de As cuando crece en un suelo contaminado en este metal. Contrariamente, la adición de fertilizantes con P puede provocar una inhibición de la absorción de otros metales contaminantes, como el Pb, debido a

su precipitación como piromorfita y cloropiromorfita (Chaney et al., 2000), o el Ni en especies de *Alyssum,* por la formación de fosfatos de Ni insolubles (Li et al., 2003a).

La adición de fertilizantes de Ca y Mg y fertilizantes orgánicos también podrían resultar claves en procesos de fitocorrección de suelos contaminados en metales pesados. La importancia del Ca^{+2} y el Mg^{+2} en la regulación de la absorción de Ni por *Alyssum* y especies no hiperacumuladoras ha sido reconocida por varios autores (Brooks et al., 1981; Chaney et al., 1999; Gabbrielli et al., 1995). Se considera posible que los altos niveles de Ca^{+2} extraíble pueda reducir la absorción de Ni por *Alyssum*, mientras que una deficiencia en Mg^{+2} no parece afectar ni a la producción de *Alyssum* ni a la concentración de Ni y Co (Li et al., 2003b). Efectos similares se encontraron en *Berkheya coddii*, en donde se observó una reducción en la absorción de Co y Ni tras la adición de $CaCO_3$ y en este caso también de $MgCO_3$ (Robinson et al., 1999). En cualquier caso, complementariamente al incremento del contenido de Ca en el suelo tras la adición de caliza, apatito o zeolita, se produce también un incremento de pH, lo que permite una estabilización de los contaminantes del suelo y una reducción de su biodisponibilidad y de su absorción por las plantas (Knox et al., 2000). En cuanto a la adición de fertilizantes orgánicos parece que, dependiendo del tipo de fertilizante y el metal contaminante, pueden provocar un incremento de la absorción de metales en algunas plantas (Narwal & Singh, 1998; Shtangeeva, 2006) o una estabilización del metal en el suelo y una reducción de su absorción en otras (Gorlach & Gambus, 1992; Eriksson, 1988; He & Singh, 1993). La turba y el estiércol son sustancias bastante heterogéneas que pueden provocar tanto un efecto solubilizante como un efecto estabilizador, y pequeñas diferencias estructurales o químicas pueden favorecer uno u otro proceso mediante la influencia en el pH o la capacidad de intercambio de cationes (Schmitd, 2003). La adición de enmiendas como cenizas, estiércol, lodos, etc. es muy efectiva para disminuir la toxicidad del metal y generar una liberación lenta de nutrientes como N, P, K que inducen el establecimiento y crecimiento de las plantas (Wong, 2003; Chiu et al., 2006). Este tipo de fertilización puede facilitar el crecimiento de las plantas en suelos pobres, y puede llegar a ser un requisito esencial para asegurar el éxito del establecimiento de la vegetación en un suelo contaminado dentro de los procesos de fitoestabilización, tal y como se ha demostrado en ocasiones en suelos de mina (Bradshaw & Chadwick, 1980; Ye et al., 1999; Walker et al., 2004).

Otras prácticas agronómicas que también se deben considerar incluyen los tratamientos de semillas, técnicas de plantación, densidad de plantación, control de malas hierbas y enfermedades, métodos, esquemas y período de cosechado y control de la polinización. Uno de los escasos trabajos que trata este tipo de prácticas agronómicas en especies hiperacumuladoras fue realizado por Li et al. (2003a), en donde se discuten temas sobre los efectos de la profundidad de sembrado en algunas especies del género *Alyssum*, la preparación del semillero, los requerimientos de luz en la germinación de semillas, los métodos de plantación óptimos (siembra directa, peletización de semillas o transplante), la densidad de

plantas (nº de plantas/m^2), que puede resultar un factor importante en la producción (Shann, 1995; Lasat, 2000), el control de las malas hierbas mediante el empleo de herbicidas y el método de cosechado más factible económicamente. Li et al., (2003a) también compararon el cultivo anual y perenne de A*lyssum murale* y *Alyssum corsicum* y concluyeron que es más económico establecer una plantación perenne que sea cosechada cada año, aunque la elección podría depender de la disponibilidad estacional de lluvias o irrigación en las localizaciones de producción. En adición, en especies como *Berkheya coddii* (Robinson et al., 1997) o *Alyssum pintodasilvae* (de Varennes et al., 1996) la excisión de las partes aéreas cosechadas induce un incremento del contenido en Ni en los tejidos de nuevo crecimiento, lo que podría incrementar el potencial fitoextractor. Cabe considerar, no obstante, que dado que las raíces de las plantas perennes exploran horizontes más profundos, son menos apropiadas que las anuales para la fitocorrección de suelos agrícolas de contaminación superficial (Schmidt et al., 2003). En cuanto a la importancia de la irrigación en el proceso de fitocorrección, Angle et al. (2003) estudió su efecto en las hiperacumuladoras de Ni *Alyssum murale* y *Berkheya coddii* y del hiperacumulador de Zn *Thlaspi caerulescens*, demostrando tanto un incremento de biomasa como de acumulación de metales de todas las especies examinadas con el incremento de la humedad en el suelo.

Fitoextracción inducida por agentes quelantes

La "*fitoextracción inducida*" se puede considerar realmente otro tipo de práctica agronómica, ya que se basa en la adición al suelo de sustancias químicas quelantes capaces de solubilizar los metales y de provocar su absorción por las plantas en crecimiento. La adición del quelante se produce cuando las plantas han desarrollado suficiente biomasa, induciendo la absorción y translocación del metal hacia la parte aérea, en donde son acumulados hasta niveles tóxicos. Una vez que las plantas mueren, son cosechadas y retiradas del lugar contaminado (Huang et al., 1997; Anderson et al., 1998). Los mecanismos implicados en la inducción de la absorción y translocación de metales por la adición de agentes quelantes no están todavía bien entendidos, aunque existen trabajos que proponen distintas hipótesis (Salt et al., 1998; Ensley et al., 1999; Lombi et al., 2001; Wenzel et al., 2003a; Luo et al., 2005). Se debe considerar que cuando el metal contaminante suele encontrase en formas biodisponibles desde un principio (por ej. Cu, Zn y Cd), la fitoextracción inducida no es factible, ya que se producen síntomas de fitotoxicidad severa en las plantas en crecimiento y la biomasa alcanzada no es suficiente (Ebbs & Kochian, 1997). Por lo tanto, esta estrategia de fitocorrección se aplica sobre suelos contaminados con metales de escasa movilidad y biodisponibilidad que generalmente se encuentran en formas residuales, como el Cr o principalmente el Pb.

Los agentes más usados en esta técnica son quelantes sintéticos como el EDTA (ácido etilendiamintetracético), CDTA (ácido trans-1,2-ciclohexilendinitrilotetracético), HEDTA (ácido

hidroxiletilendiamintetracético), EGTA (ácido etilen bis-(oxietilentrinitrilo) tetracético), DTPA (ácido dietilentriaminpentacético), NTA (ácido nitrilotriacético), etc. (Blaylock et al., 1997; Huang et al., 1997; Schmidt et al., 2003; Chiu et al., 2005b; Lai & Chen, 2005; Quartacci et al., 2006). En ocasiones, el tratamiento con quelantes se combina con agentes acidificantes (Brown et al., 1994; Cunningham & Ow, 1996; Huang et al., 1998; Blaylock & Huang, 2000; Chen et al., 2000; Chen & Cutright, 2001) o sales fertilizantes (Lasat et al., 1997; Huang et al., 1997), con el objetivo de incrementar la cantidad de metales biodisponibles en la disolución del suelo. Los posibles agentes acidificantes del suelo que pueden adicionarse incluyen ácidos orgánicos e inorgánicos, S elemental y compuestos de NH_4 (por ej. sulfato amónico) (Schmidt, 2003; Brown et al., 1994; Huang et al., 1998; Robinson et al., 1999; Schremmer et al., 1999; Puschenreiter et al., 2001). No todos los ácidos orgánicos, sin embargo, producen cambios significativos en la absorción de metales por las plantas (Wu et al., 2004). Se ha comprobado igualmente que la adición del glifosato (N-fosfonometilglicina) combinado con el tratamiento de EDTA puede incrementar aún más la absorción de Pb por las plantas (Schmidt, 2003), así como la aplicación de un potencial eléctrico alrededor de la planta (Lim et al., 2004). Las especies vegetales empleadas deben de tener una elevada tasa de crecimiento y biomasa y presentar cierta capacidad para tolerar y acumular metales en su parte aérea. Hasta ahora se han empleado fundamentalmente plantas de cultivo, como *Zea mays, Pisum sativum, Nicotiana tabacco, Helianthus annuus* y, principalmente, *Brassica juncea* (Kumar et al., 1995; Salt et al., 1995; Blaylock et al., 1997; Ebbs et al., 1997; Huang et al., 1997; Piechalak et al. 2003; Ebbs & Kochian, 1998).

Existe una gran controversia alrededor del destino del quelante residual en el suelo después de que ha tenido lugar la absorción de metal por parte de las plantas (Brooks, 1998). Agentes quelantes como el EDTA no son fácilmente biodegradables, y pueden permanecer adsorbidos a las partículas del suelo durante períodos muy elevados tras el proceso de fitoextracción (Wasay et al., 1998; Lombi et al., 2001). En adición, la liberación masiva de compuestos metálicos hacia la disolución del suelo implica la posibilidad de que parte de los metales tóxicos sean lixiviados hacia las partes inferiores del perfil del suelo, llegando posiblemente a las aguas subterráneas y provocando un elevado riesgo ambiental (Cunningham et al., 1997; Bundt et al., 2000). Numerosos trabajos se han centrado en este aspecto mediante el estudio de columnas de lixiviado tras la adición de diferentes agentes quelantes (fundamentalmente EDTA) y han puesto de manifiesto un amplio lavado de la mayor parte de los metales y quelantes (Sun et al., 2001; Madrid et al., 2003; Chen et al., 2004; Wu et al., 2004; Greman et al., 2003; Meers et al., 2005; Römkens et al., 2002; Chiu et al., 2005; Cooper et al., 1999). Algunos autores proponen como alternativa el empleo de ácidos húmicos exógenos que pueden formar complejos metálicos biodisponibles para las plantas mientras que, al mismo tiempo, estabilizan gran parte de los metales previniendo su movilidad ambiental (Srivastava et al., 1999; Halim et al., 2003; Evangelou et al., 2004; Clemente & Bernal, 2006). Sin embargo, la obtención de una cantidad suficiente de ácidos húmicos o ácidos orgánicos de

bajo peso molecular para su utilización en fitoextracción supone un gasto económico que impide que puedan competir con los quelantes sintéticos (Evangelou et al., 2004; Evangelou et al., 2006). Otras alternativas fueron dadas por Kayser et al. (2000) y Shen et al. (2002), que propusieron dividir la aplicación de agentes quelantes en dosis separadas, lo cuál reduce el lixiviado de metales, pero en ocasiones simultáneamente también reduce la eficacia de la fitoextracción (Gréman et al., 2001). El control de la irrigación también fue propuesto por Kos & Lestan (2004), que probaron la eficacia de barreras permeables con materiales reactivos, vermiculita enriquecida en nutrientes, turba o hidrogel agrícola y apatito. Madrid et al. (2003), por su parte, propusieron la recogida del lixiviado enriquecido en metales utilizando un sistema de subirrigación-drenaje de dos cañerías. Todas estas técnicas, sin embargo, incrementan el coste de la fitoextracción y no evita el lixiviado provocado por la caída de la lluvia, por lo que parece que la fitoextracción inducida se presenta como una opción que se limita a aquellos lugares hidráulicamente aislados en donde no existe un flujo de aguas de entrada y salida en el sistema, debiéndose llevar a cabo, en cualquier caso, un control del movimiento de los metales pesados.

Mejora del proceso mediante manipulación rizosférica

La rizosfera es la zona en la cual los metales entran en contacto con las raíces de las plantas, constituyendo una interfaz suelo-planta de gran importancia en el proceso de fitocorrección. El conocimiento de los factores bioquímicos rizosféricos tales como la exudación por parte de las raíces de agentes quelantes naturales y el papel que juegan los microorganismos rizosféricos asociados (bacterias y hongos) pueden llegar a ser importantes en la optimización de los procesos de fitocorrección (Abou-Shanab et al., 2003; Whithing et al., 2001; Chen & Cutright, 2002; Cao et al., 2003).

Los exudados radiculares son específicos de cada especie y, además, pueden variar cuando la misma especie crece en diferentes suelos (Ciezlinski et al., 1998). Es posible que la exudación radicular de las especies hiperacumuladoras libere metales de las fracciones menos biodisponibles e incremente la concentración de iones metálicos en la disolución del suelo (Hammer & Keller, 2002). Los mecanismos implicados podrían ser, por un lado, la acidificación de la rizosfera mediante la liberación de H+ que compiten y reemplazan a los iones metálicos de los sitios de unión (Crowley et al., 1991) y, por otro lado, la exudación de quelantes naturales con potencial para inducir la solubilidad, absorción y translocación de metales (Romheld & Marschner, 1986). Hasta la fecha, sin embargo, los datos sobre la implicación de los exudados radiculares de las plantas hiperacumuladoras en la movilización metálica son contradictorios. En suelos ácidos y calcáreos algunos autores encontraron, por ejemplo, que *Thlaspi caerulescens* liberaba determinados exudados que tendían a disminuir el pH de la rizosfera para incrementar la solubilidad de los metales (Hammer & Keller, 2002; Knight et al., 1997), mientras que otros observaron un aumento del pH (McGrath et al., 1997; Luo et al.,

2000). Algo similar sucede con *Alyssum murale* para el caso del Ni (Brown et al., 1994). En adición, en muchos casos no se encuentran diferencias de variación de pH en la rizosfera entre especies hiperacumuladoras y no hiperacumuladoras, lo que implica que los cambios en el pH no parecen ser un mecanismo relevante en la movilización de metales en plantas hiperacumuladoras (Bernal et al., 1994; Knight et al., 1997; McGrath et al., 1997; McGrath et al., 2001). Estudios recientes sugieren que en el incremento de la absorción de metales por especies hiperacumuladoras podrían influir, más bien, los mecanismos de complejación de metales por los compuestos exudados y diferencias en el número y afinidad de transportadores en la raíz. En este sentido, muchos trabajos encuentran una relación entre la hiperacumulación de metales y la cantidad de compuestos exudados (C orgánico disuelto) (Wenzel et al., 2003b; Tu et al., 2004; Fitz et al., 2003; Li et al., 2005; Puschenreiter, 2005). En otros trabajos, sin embargo, no se encuentra un papel importante de los exudados radiculares en el acceso a las especies metálicas menos biodisponibles (Zhao et al., 2001; Hammer et al., 2006; Salt et al., 2000; Puschenreiter et al., 2003). En los hiperacumuladores del género *Alyssum*, por ejemplo, no se conoce la liberación de cantidades significativas de compuestos quelantes como la histidina hacia la rizosfera, aunque sí es un compuesto importante para la translocación y detoxificación de Ni dentro de la planta (Krämer et al., 1996). En cualquier caso, el debate continúa, y el papel de los exudados radiculares en la liberación y solubilización de los metales no ha sido demasiado probado experimentalmente (Yang et al., 2002).

Los posibles beneficios de los microorganismos de la rizosfera en los procesos de fitocorrección de metales pueden derivar de distintos procesos (Jing et al., 2007), como puede ser la estimulación del crecimiento de la planta (Vogel-Mikus¡ et al., 2006; Wu et al., 2006a), la detoxificación del metal o resistencia por su inmovilización en la rizosfera (Wu et al., 2006b) y/o la inducción de la acumulación del metal en la planta (de Souza et al., 1999; Chen et al., 2005; Arriagada et al., 2007).

La proliferación de determinadas rizobacterias y micorrizas (AMF) estimula el crecimiento de las plantas bajo condiciones ambientales estresantes porque sintetizan compuestos que facilitan la absorción de nutrientes como N y P e, indirectamente, porque disminuyen o previenen los efectos negativos de los organismos fitopatógenos (Duñabeitia et al., 2004; Morgan et al., 2005; Smith & Read, 1997; Meharg & Cairney, 2000; Leyval et al., 1997). Este tipo de rizobacterias se conocen con el término inglés de "*Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)*" (Glick, 1995; Kamnev & van der Lelie, 2000; Khan, 2005; Jing et al., 2007; Zhuang et al., 2007), y existen algunos trabajos, como el de Jankong et al. (2007), que muestran su efecto potencial sobre la fitoextracción de metales. Estos autores vieron que la inoculación de rizobacterias no influía demasiado en la concentración de As en el hiperacumulador *Pteris calomelanos*, pero inducía un incremento significativo en la biomasa, especialmente de la parte aérea, que resultó en un incremento del As extraído. La manipulación de la población microbiana en la rizosfera utilizando una inoculación consistente

de un conjunto de PGPR, bacterias estimuladoras de las micorrizas, rizobacterias fijadoras de N y AMF como biofertilizante, podría proveer, por tanto, beneficios cruciales a las plantas para la recuperación de ecosistemas y tierras contaminadas (Khan, 2005). Hasta ahora, sin embargo, existen todavía grandes dificultades para la aplicación de PGPR en tecnologías de fitocorrección (Zhuang et al., 2007).

El efecto positivo de los microorganismos de la rizosfera (rizobacterias y/u hongos) en la estabilización de contaminantes metálicos y en el establecimiento de la vegetación sobre suelos contaminados ha sido también demostrado en numerosas ocasiones (Petrisor et al., 2004; Pal & Paul, 2004; Wu et al., 2006b; Leyval et al., 1997; Khan et al., 2000; Oliveira et al., 2001; Orlowska et al., 2002; Adriaensen et al., 2005; Shetty et al., 1994; Li & Christie, 2001). La exudación microbiana en el suelo podría estar implicada en muchos procesos redox y procesos de solubilización/estabilización de metales en la rizosfera (Smith & Read, 1997; Banaszan, 1999; Wielinga et al., 1999; Dington, 1990), promoviendo en muchos casos la complejación y/o precipitación de metales y evitando su absorción y translocación a la parte aérea por parte de las plantas. Muchos de estos procesos dependen del metal contaminante y de la especie de planta y microorganismo, tanto en el caso de rizobacterias (Marschner et al., 2001; Marschner et al., 2004) como de AMF (Galli et al., 1994; Leyval et al., 1997; Malcová et al., 2003). En cualquier caso, una selección adecuada de rizobacterias y hongos micorrícicos podría llegar a ser especialmente útil desde el punto de vista de la fitoestabilización (González-Chávez et al., 2006; Turnau et al., 2006), e incluso algunas rizobacterias podrían ser útiles en suelos contaminados con mezclas de compuestos orgánicos y metales debido a su capacidad de degradar los compuestos orgánicos (Wu et al., 2006b).

Otros trabajos han mostrado que en algunos casos las rizobacterias y hongos micorrícicos son más eficientes en la solubilización y en la inducción de la absorción de ciertos metales (Whitfield et al., 2003; Arriagada et al., 2007; Kaldorf et al., 1999; Amezcua-Allieri et al., 2005; Davis Jr. et al., 2001). Abou-Shanab et al. (2003, 2006) concluyeron, por ejemplo, que las rizobacterias aisladas de la rizosfera de la hiperacumuladora *Alyssum murale* creciendo sobre suelos serpentiníticos contribuyen a incrementar la disponibilidad de Ni, y su inoculación podría ser utilizada en esta planta para incrementar significativamente la eficiencia del proceso de fitoextracción en suelos contaminados. También se han aislado rizobacterias en la hiperacumuladora de Ni *Alyssum bertolinii* (Mengoni et al., 2001) y se ha demostrado, a su vez, la implicación de bacterias en la movilización de Zn en la rizosfera de *Thlaspi caerulescens* (Withing et al., 2001; Delorme et al., 2001). Por otro lado, el papel de las asociaciones micorrícicas en especies hiperacumuladoras no está claro (González-Chávez et al., 2006), y parece ser específico del metal, de la planta y de la raza o especie de AMF (Lasat et al., 2000; Orlowska et al., 2005). Muchas hiperacumuladoras pertenecientes a la familia *Brasicaceae* o hiperacumuladoras de Zn y Pb como *Thlaspi praecox* no presentan generalmente asociaciones con micorrizas arbusculares o la colonización es muy escasa (DeMars & Boerner, 1996;

Pawlowska et al., 1996; Regvar et al., 2003), por lo que no parecen estar implicadas en este caso en la inducción de la adquisición de metales (McGrath et al., 2001). En especies hiperacumuladoras de Ni de la familia *Asteraceae,* sin embargo, existe una colonización importante de AMF (Jeffries et al., 2003), al igual que en la hiperacumuladora de Ni *Berkheya coddii* bajo condiciones de invernadero (Turnau et al., 2006). En este último caso, la inoculación con hongos nativos (*Gigaspora sp*. y *Glomus tenue*) no sólo incrementa la biomasa de la parte aérea, sino que también incrementa significativamente (2 veces) el contenido en Ni en comparación con las plantas no inoculadas. Resultados similares mediante la adición de hongos fueron obtenidos también en ocasiones en la hiperacumuladora de As *Pteris vittata* (Leung et al., 2006), aunque en este caso existen también resultados contrarios probablemente por diferencias en la concentración disponible de As en el suelo y en las especies de hongos existentes (Trotta et al., 2006; Chen et al., 2006). En otras especies de plantas, como *Pityrogramma calomelanos,* los rizohongos inducían un incremento de biomasa pero una reducción de la acumulación de As, proponiéndose la utilización de bacterias para incrementar la fitoextracción y la utilización de rizohongos para incrementar la fitoestabilización (Jankong et al., 2007).

En cuanto a la metodología que se podría utilizar para manipular los microorganismos de la rizosfera en los procesos de fitocorrección, parece que la modificación de la biomasa microbiana del suelo por prácticas agrícolas convencionales podría ser más fácil que la modificación por adición directa de microorganismos al suelo. Algunos diseños experimentales, como el tratamiento de las semillas con ciertas razas de microorganismos antes de su sembrado, muestran resultados prometedores en cuanto a la inducción de la absorción de metales pesados. Por ejemplo, la germinación de semillas de trigo, avena y cebada sobre filtros de papel humedecido con cultivos de *Cellulomonas sp 32 SPBTI* o *Mycobacterium sp 12* resultó en una mayor absorción por parte de la avena de diferentes macroelementos, como el K, y elementos traza (Shtangeeva et al., 2001). Además, en trigo se encontró un incremento de la concentración de Cr, Rb, Ag, Sb, Cs, Hf, Th y U en hojas y raíces cuando las semillas fueron tratadas con *Cellulomonas* o *Mycobacterium*. Para árboles y arbustos, la inoculación en el semillero durante las primeras etapas de crecimiento es el método ideal para introducir AMF en los suelos. Cuando la población de AMF presentes en el suelo contaminado es escasa, algunas prácticas tales como la baja fertilización y la aplicación de bajos niveles de pesticida, así como no labrar la tierra, debe ayudar a incrementar la presencia de hongos (González-Chávez et al., 2006). A pesar de todo ello, algunos estudios con diferentes sistemas de bacterias mostraron que es muy difícil superar la competitividad de las poblaciones indígenas y la inoculación es raramente exitosa (Scott et al., 2001). Además se deben considerar las consecuencias de una variación en las especies que constituyen la población natural de bacterias y hongos en la rizosfera. En este sentido, es importante utilizar razas indígenas de AMF que están mejor adaptadas a las condiciones del suelo y clima para producir una inoculación de AMF específica de cada área (Khan, 2005).

Selección y reproducción de cultivares mejorados

La selección genética tradicional utiliza la diversidad genética disponible dentro de las especies para realizar cruzamientos y combinar los rasgos necesarios para el éxito de los procesos de fitocorrección, que se centran fundamentalmente en una elevada tasa de crecimiento y producción de biomasa y en una elevada capacidad de transformación, degradación o acumulación de contaminantes. Otros caracteres interesantes, no obstante, podrían ser la resistencia y tolerancia hacia contaminantes, capacidad de evapotranspiración, requerimientos de fertilidad de los suelos, requerimientos de humedad, tolerancia a la salinidad y adaptabilidad hacia otros factores de estrés bióticos y abióticos (Cunningham & Ow, 1996; Thangavel & Subbhuraam, 2004).

Las especies hiperacumuladoras poseen una amplia variabilidad genética, por lo que las líneas parentales genéticas pueden ser seleccionadas para la producción de cultivares mejorados para los procesos de fitoextracción. Así por ejemplo, se ha encontrado una gran variación en la producción de biomasa entre las poblaciones de *Streptanthus polygaloides* (Nicks & Chambers, 1995) y entre individuos de la misma población de *Thlaspi caerulescens* (Brooks & Robinson, 1998). Li et al. (1996) compararon 20 genotipos de *Thlaspi caerulescens* recolectados en Alemania, España, Francia, UK, Bélgica, Portugal y Noruega y comprobaron la existencia de una extensa variación genética en diferentes rasgos como la producción de biomasa, tolerancia al Zn, concentración de Zn en parte aérea, y absorción de Cd relativa al Zn. Esta amplia variabilidad genética en cuanto a la tolerancia y contenido de Zn y Cd ha sido demostrada en diversas ocasiones (Meerts & Van Isacker, 1997, Lombi et al., 2000; Roosen et al., 2003), encontrándose que las poblaciones del Sur de Francia tienen la mayor capacidad de hiperacumulación de Cd, que puede superar entre 10-20 veces las concentraciones de otras poblaciones como las de Bélgica o UK (Lombi et al., 2000, 2001b; Zhao et al., 2003).

Los trabajos sobre selección y domesticación de especies hiperacumuladoras existentes hasta la fecha han sido realizados principalmente por el grupo de investigación dirigido por Chaney, en USA. Ellos proponen el uso de la selección genética tradicional para conseguir especies hiperacumuladoras mejoradas y para incorporar rasgos significativos, como la tolerancia a metales y características de absorción, a plantas de elevada producción de biomasa para su uso en fitoextracción (Chaney et al., 2000). En este sentido se han obtenido buenos resultados para la fitoextracción de Co y Ni, con estudios centrados en diversas especies y ecotipos de *Alyssum* (Chaney et al., 1998; Li et al., 2003; Chaney et al., 2005). Entre las 18 especies y ecotipos muestreados, *Alyssum murale* y *Alyssum corsicum* tuvieron comparativamente los mejores rendimientos, comprobándose la existencia de una amplia variabilidad genética en cuanto a la concentración de Ni y producción de biomasa entre las seis mejores especies (incluyendo la evaluación de 125 variedades de *Alyssum murale* y 45 de *Alyssum corsicum*). Las concentraciones medias de Ni en la parte aérea de *Alyssum murale* y *Alyssum corsicum* variaron ampliamente entre 4200 y 20400 mg kg^{-1}. El resultado de estos

trabajos fue el desarrollo de una tecnología de fitoextracción comercial de Ni patentada mediante la domesticación de especies de *Alyssum* con una amplia efectividad natural en la hiperacumulación de Ni, como es el *Alyssum murale*. Este grupo de investigación también describe el uso de plantas hiperacumuladoras de Zn y Cd en la fitoextracción de suelos contaminados en estos metales, incluyendo estrategias para crear cultivares mejorados de *Thlaspi caerulescens* (Synkowski, 2004; Chaney et al., 2005).

Muchos trabajos sobre especies no hiperacumuladoras utilizadas normalmente en ensayos de fitocorrección también muestran la existencia de una larga variabilidad genética (Kurz et al., 1997; Kloke, 1994). Schulman et al. (1999) encontró, por ejemplo, un mutante de *Brassica juncea* que muestra una mayor concentración de Pb en sus tejidos debido a la mayor delgadez de las paredes celulares. Otro ejemplo fue dado recientemente por Nehnevajova et al. (2005) examinando 15 cultivares comerciales de *Helianthus annuus* creciendo en suelos contaminados en metales. Estos autores determinaron que la variedad *Salut* presenta una eficiencia de extracción de Cd, Zn y Pb que supera en hasta 4.4 veces a otras variedades. Finalmente se puede hablar del género *Salix*, para el que la ejecución de programas de selección para la producción de bioenergía ha desarrollado una amplia variedad de clones, especialmente de *Salix viminalis* (Lindegaard & Baker, 1997). Algunos de ellos están adaptados a ambientes extremos y crecen espontáneamente en áreas contaminadas, siendo capaces de desarrollar e inducir tolerancia debido a los metales presentes en su suelo original (Dickinson et al., 1994; Álvarez et al., 2003; Vandecasteele et al., 2002; Kopponen et al., 2001).

Mejora genética de plantas

La diversidad genética de las plantas seleccionadas de manera natural para su utilización en procesos de fitocorrección es finita. No obstante, la posibilidad de producir organismos transgénicos con mayor capacidad de acumulación, translocación y detoxificación de metales, así como con mayor producción de biomasa, ha abierto nuevos campos de experimentación y perspectivas para el desarrollo científico y tecnológico de los procesos de fitocorrección (Gleba et al., 1999; Bizily et al., 2000; Iimura et al., 2002; Karenlampi et al., 2000; Mengoni et al., 2000; Kramer & Chardonnens, 2001; Pence et al., 2000).

Tres proyectos de investigación del programa EUFP5 (PHYTAC, METALLOPHYTES, METALHOME) han permitido durante los últimos años un progreso significativo en el entendimiento molecular de la homeostasis de metales en plantas hiperacumuladoras como *Arabidopsis hallerii* o *Thlaspi caerulescens* (Becher et al. 2004; Craciun et al. 2006; Rigola et al. 2006; Talke et al. 2006; Weber et al. 2004; Van de Mortel et al. 2006). La transferencia de características de acumulación y tolerancia de metales desde hiperacumuladoras a otras especies de plantas ha sido reconocida en algunos casos (Chaney et al., 1997), pero la identificación de los genes que controlan estos rasgos continúa siendo dificultosa y la

ingeniería genética todavía no ha conseguido la elaboración de una nueva planta hiperacumuladora en sentido estricto. La transferencia o sobreexpresión de alguno de los genes que codifican los transportadores de alta afinidad involucrados en los procesos de absorción de metales por las raíces de hiperacumuladoras (por ej. ZIPs, NtCBP, Nramps, LCT1) se planteó como una de las estrategias más prometedoras (Saxena et al., 1999), aunque hasta ahora no se ha considerado su expresión específica en los tejidos, que debe ser crucial en el proceso de hiperacumulación (Talukdar, 2007). También han sido identificados algunos genes, como el HMA4, involucrados en la translocación de metales desde la raíz hacia la parte aérea mediante un incremento del flujo hacia el xilema o una represión del almacenamiento radicular (ej. en las vacuolas celulares) (Papoyan & Kochian 2004; Verret et al. 2004). Sin embargo, el modo en que estos genes regulan la respuesta hacia los metales y su especificidad tisular es todavía ampliamente desconocido. La identificación de encimas implicadas en la producción de compuestos complejantes de metales (aminoácidos, MT, PCs, GSH) y de genes que codifican transportadores de membrana como Cpx-type, ATPasas, y transportadores de flujo como CDF, ABC o CAX, abre también las puertas para conseguir la detoxificación y compartimentalización de metales en los tejidos aéreos típica de plantas hiperacumuladoras (Liang et al., 1999; Pilon-Smits et al., 1999; Kärenlampi et al. 2000; Krämer et al. 2007). Martínez et al. (2006) mostró el potencial de este tipo de estrategias al provocar en *Nicotiana glauca* una sobreexpresión del gen TaPCS1, que codifica una encima responsable de la formación de fitoquelantes (PC sintetasa), consiguiendo niveles de acumulación, especialmente de Zn y Pb, superiores a los de la hiperacumuladora *Thlaspi caerulescens*, presentando además una producción de biomasa 100 veces mayor.

La ingeniería genética trata de suplir la ausencia de plantas hiperacumuladoras de elevada biomasa, bien transfiriendo rasgos de hiperacumulación a plantas de elevada producción de biomasa, o bien incrementando la biomasa de las hiperacumuladoras naturales mediante técnicas de mutagénesis convencional. En este sentido, Brewer et al. (1999) transfirieron los rasgos de hiperacumulación entre *Thlaspi caerulescens* (hiperacumulador de Zn) y *Brassica napus* por vía somática e hibridación sexual y obtuvieron híbridos que acumulaban altos niveles de Zn y Cd que resultaban tóxicos para *Brassica napus* en condiciones normales, aunque no resultaron ser fértiles y eventualmente murieron. De manera similar, Dushenkov et al. (2002), en este caso con *Brassica juncea*, desarrollaron 14 híbridos (simétricos y asimétricos) de los cuales dos fueron capaces de producir semillas. Los híbridos asimétricos presentaron una mayor biomasa, así como una mayor tolerancia y acumulación de Zn y Ni.

La alteración de determinadas rutas metabólicas mediante la transferencia de genes procedentes de otros organismos, como determinadas bacterias, también puede llegar a resultar una estrategia prometedora para el favorecimiento de determinados procesos de fitocorrección. El mayor éxito conseguido en este campo se relaciona con la transformación de plantas usando genes Mer Operon modificados de algunas bacterias, y que están implicados

en la descomposición de compuestos orgánicos de mercurio en Hg^{+2} (Mer B), y en su reducción de Hg^{+2} a Hg elemental (Mer A) (Rugh et al., 1996; Heaton et al., 1998; Pilon-Smits & Pilon, 2000; Bizily et al., 2000, 2001, 2003). La expresión del gen MerA ha resultado exitosa en diversas especies de plantas facilitando el proceso de fitovolatilización de Hg, como por ejemplo en *Arabidopsis, Brassica, tobacco* y *Liriodendron* (Rugh et al., 1998; Meagher et al., 2000). Más recientemente se han desarrollado otros trabajos siguiendo este tipo de estrategia para mejorar la fitocorrección de As o Se (Dhankher et al., 2002; Van Huysen et al., 2003, 2004).

La aplicación práctica de organismos genéticamente modificados presenta objeciones ecológicas, sociales y legales que podrían limitar su uso en procesos de fitocorrección (Käppeli & Auberson, 1998; European Environment Agency (EEA), 1999). Distintos autores, sin embargo, defienden estas estrategias y consideran que muchos de los riesgos considerados son insignificantes (Meagher et al., 2000; Meagher, 2000; Rugh et al., 2000; Lin et al., 2000).

Tratamiento del material vegetal residual

La manipulación y vertido del material vegetal residual contaminado que se produce durante el proceso de fitocorrección puede llegar a representar un claro riesgo ambiental. La necesidad de cosechar esta biomasa contaminada y deshacerse de ella en condiciones ambientalmente seguras crea un coste añadido y representa una desventaja potencial de esta tecnología (Lasat, 2000; Ernst, 2005). La práctica más utilizada actualmente es generalmente la deposición del material vegetal en vertederos regulados (especialmente en USA) (Chaney et al., 2000), y se barajan distintas posibilidades de actuación para disminuir el volumen de biomasa residual depositada y reducir los costes de manipulación, procesado y vertido (Lasat, 2000; Ghosh & Singh, 2005).

Una de las prácticas más propuesta es el compostaje y la compactación del material vegetal (Raskin et al., 1997; Kumar et al., 1995; Garbisu et al., 2001; Hetland et al., 2001; Blaylock & Huang, 2000). Sin embargo, distintas pruebas en los lixiviados del material compostado mostraron la formación de compuestos orgánicos solubles que inducen la solubilidad del metal. Ello supone que los lixiviados producidos se deben controlar y tratar adecuadamente, lo que supone un gasto económico añadido (Ghosh & Singh, 2005).

Diferentes tratamientos térmicos pueden reducir también el volumen del material cosechado tras el proceso de fitoextracción. La incineración de la biomasa contaminada provoca una reducción del volumen al 2-5%, aunque existe el riesgo de la emisión de óxidos de metales durante la combustión. Los óxidos metálicos son tóxicos y cancerígenos, por lo que durante el proceso de incineración se debe llevar a cabo un control de las emisiones de gases mediante la aplicación de algunos de los métodos disponibles actualmente, lo que encarece

significativamente el proceso (Bridgwater et al., 1999; Raskin et al., 1997). La opción de generar energía mediante el calor desprendido en la combustión, no obstante, podría compensar este gasto. Los metales que permanecen en las cenizas se encuentran fuertemente complejados y estables, por lo que no suponen una amenaza seria hacia el ambiente al depositarla en vertederos (EPA, 1997). A pesar de ello, dado que la concentración de metales en las cenizas puede superar el 30% en peso, en algunos países como en Suiza son consideradas como residuos peligrosos (Swiss Federal Legislation, 1996), debiendose producir la incineración de la biomasa con otros materiales, como residuos urbanos, para diluir los metales de las cenizas hasta niveles aceptables (Angle & Linacre, 2005). Otros tratamientos térmicos, como la gasificación, generan un gas limpio con una alta eficiencia térmica que puede ser utilizado para la generación de energía térmica y eléctrica por combustión (Ghosh & Singh, 2005). Este tratamiento es complejo y engloba procesos de secado, calentamiento, descomposición térmica/gasificación (pirolisis), y reacciones químicas de combustión que ocurren simultáneamente (Iyer et al., 2002). La aplicación de una simple pirolisis, en donde el material vegetal es descompuesto en condiciones anaeróbicas, produce en este caso un fluido pirolítico aceitoso y restos en donde se concentran los metales pesados (Bridgewater et al., 1999; Helsen et al., 1997). El tratamiento de pirolisis presenta, no obstante, ciertas limitaciones, como puede ser el alto coste de la instalación si se usa únicamente para la descomposición del material vegetal. En este sentido, se ha propuesto como solución la utilización de instalaciones existentes y la realización del proceso junto con otros residuos urbanos. Keller et al. (2005) compararon distintos tratamientos térmicos sobre la biomasa generada por *Thlaspi caerulescens* y *Salix viminalis* con elevados contenidos en Zn y Cd y concluyeron que los resultados varían con el tipo y humedad del material vegetal empleado y con el metal considerado (Zn/Cd), así como con las condiciones redox de la incineración. La concentración de Zn en la ceniza residual de *Thlaspi* superó el máximo permitido para la deposición de cenizas como material inerte, por lo que la mejor alternativa es su incineración con una mezcla de residuos sólidos urbanos. Alternativamente, los resultados con Salix muestran que la pirolisis provoca unos residuos con una reducción drástica de Zn, por lo que podría ser una opción (Koppolu et al., 2003) si existen instalaciones disponibles o si otros metales que no son fácilmente volatilizados (ej Ni o Co (Ljung & Nordin, 1997; Belevi & Langmeier, 2000)) tienen que ser eliminados. Después de la fitoextracción, cada tipo de planta debe ser procesada de manera independiente debido a su diferente comportamiento térmico y a las diferentes cantidades de materia seca cosechada. Las plantas de elevada biomasa deben ser procesadas solas, mientras que las plantas hiperacumuladoras de baja biomasa se deberán integrar en un esquema de incineración que incluyan otros residuos. Debe prevalecer, sin embargo, que la elección de la fitoextracción como una técnica de recuperación, así como la elección del tipo de planta usada, dependerá tanto de las características del sitio como de las instalaciones disponibles para la deposición de los residuos (Keller et al., 2005).

Uno de los tratamientos más prometedores del material vegetal residual es un método termo-químico que se basa en la utilización de la biomasa obtenida como fuente de energía mediante su incineración, utilizando posteriormente las cenizas para la extracción química del metal acumulado (Kumar et al., 1995; Comis, 1996; Cunningham & Ow, 1996; Prasad & Freitas; 2003). Las cenizas resultantes de la incineración pueden contener concentraciones de metal varias veces mayor que las menas convencionales de rocas del subsuelo, por lo que pueden ser consideradas "bio-menas" con gran valor potencial dependiendo del precio del metal extraído. El término "fitominería" define la extracción de metales económicamente valiosos, como el Ni, mediante la utilización de plantas hiperacumuladoras en aquellos lugares en donde no se puede producir una extracción del metal por técnicas mineras convencionales, debido a problemas económicos o ambientales (Nicks & Chambers, 1995). El término se extendió al proceso de recuperación del metal extraído por plantas hiperacumuladoras durante los procesos de fitoextracción sobre suelos industriales contaminados en Ni, en donde paralelamente se produce una limpieza del suelo. En estos casos, el valor económico del metal recuperado puede ayudar a reducir los gastos de todo el proceso de fitocorrección. Li et al. (2003a), hacen una descripción de un proceso de fitominería de Ni económicamente viable que podría ser llevado a cabo con la biomasa de *Alyssum murale* y *Alyssum corsicum,* que pueden alcanzar concentraciones de Ni en su parte aérea tan altas como 22 g kg^{-1} y una producción de biomasa en líneas parentales seleccionadas de 20 t ha^{-1}. Chaney et al. (2005) estudiaron igualmente la viabilidad económica de la recuperación de Cd por fitominería utilizando la mejor hiperacumuladora de Cd conocida, *Thlaspi caerulescens*, y concluyeron que en este caso, dado que el Cd y el Zn acumulado en la biomasa tiene mucho menos valor que el Ni, el proceso no parece rentable. Otros trabajos han considerado también la posibilidad de recuperar Ti o Au (Anderson et al., 1999; Tremel, 1996; Tremel et al., 1997; Tremel & Mench, 1997; Kurz et al., 1997) e incluso se ha planteado la posibilidad de una extracción simultánea de Ni-Co por *Berkheya coddii*, sin demasiada rentabilidad (Keeling et al., 2003). En cualquier caso, la incineración de los tejidos de las plantas para producir una "bio-mena" con alta concentración de metal residual, seguido por una fundición convencional o calcinado, ha sido defendido como la estrategia de procesado apropiada para la recuperación del metal y la reducción de costes de fitoextracción (Anderson et al., 1999; Brooks et al., 1998; Chaney et al., 1998; Nicks & Chambers, 1995; Sas-Nowosielska et al.; 2004). Existen, sin embargo, pocos trabajos en detalle de los métodos usados y los resultados obtenidos tras los procedimientos empleados.

Además de los distintos tratamientos mencionados, estudios recientes muestran la posibilidad de aprovechar la biomasa de ciertas plantas hiperacumuladoras, como el género *Alyssum,* como una fuente de fertilización orgánica potencial de Ni y otros micronutrientes (Wood et al., 2006). La aplicación por aspersión de una extracción acuosa de la biomasa de *Alyssum murale* podría llegar a ser tan efectivo como la aplicación de sales de sulfato de Ni comerciales, y podría ser útil en espacios que presentan una deficiencia severa de Ni, así como

en bosques perennes y de legumbres tropicales que presentan cierta deficiencia (Wood et al., 2004; Wood et al., 2006). Así mismo, la biomasa generada durante la fitocorrección de Se por plantas como *Brassica rapa* puede ser útil como suplemento de Se en el pienso del ganado (Bañuelos & Mayland, 2000), suministrando una mejor fuente y distribución de Se que el seleniato comúnmente utilizado. Este tipo de estudios demuestran por primera vez que las deficiencias de micronutrientes pueden ser potencialmente corregidas mediante el uso de extractos de plantas acumuladoras de metales y abre las puertas de una nueva posibilidad de aprovechamiento económico de la biomasa de las plantas hiperacumuladoras utilizadas en los procesos de fitocorrección.

6. REFERENCIAS

Abou-Shanab, R.A., Angle, J.S., Delorme, T.A., Chaney, R.L., van Berkum, P., Moawad, H., Ghanem, K., Ghozlan, H.A., 2003. "Rhizobacterial effects on nickel extraction from soil and uptake by *Alyssum murale*". New Phytologist, 158: 219-224.

Abou-Shanab, R.A.I., Angle, J.S., Chaney, R.L., 2006. "Bacterial inoculants affecting nickel uptake by *Alyssum murale* from low, moderate and high Ni soils". Soil Biology & Biochemistry, 38: 2882–2889.

Adriano, D.C., 1986. "Trace elements in the terrestrial environment". Springer-Verlag, New York.

Adriano, D.C., 2001. "Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals". 2nd Edition. Springer-Verlag New York. Berlin Heidelberg.

Adriaensen, K., Vralstad, T., Noben, J.-P., Vangronsveld, J., Colpaert, J. V., 2005. "Copper-adapted *Suillus luteus*, a symbiotic solution for pines colonizing Cu mine spoils". Applied and Environmental Microbiology: 7279–7284.

A.E.M.A (Agencia Europea de Medio Ambiente), 2000. "CORINE (Coordination of Information on the Environment) Land Cover".

Alkorta, I., Hernández-Allica, J., Becerril, J. M., Amezaga, I., Albizu, I., Garbisu, C., 2004. "Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic". Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 3: 71-90.

Alloway, BJ., 1995. "Heavy metals in soils". Chapman & Hall, London.

Alvarez, E., Fernandez Marcos, M.L., Vaamonde, C., Fernandez-Sanjurjo, M.J., 2003. "Heavy metals in the dump of an abandoned mine in Galicia (NW Spain) and in the spontaneously occurring vegetation". Science of the Total Environment, 313: 185–197.

Alvarenga, P.M., Araújo, M.F., Silva, J.A.L., 2004. "Elemental uptake and root-leaves transfer in *Cistus ladanifer* L. growing in a contaminated pyrite mining area (Aljustrel-Portugal)". Water, Air and Soil Pollution, 152: 81–96.

Amezcua-Allieri, M.A., Lead, J.R., Rodríguez-Vázquez, R., 2005. "Impact of microbial activity on copper, lead and nickel mobilization during the bioremediation of soil PAHs". Chemosphere, 61: 484–491.

Andelman, J.B. & Underhill, D.W., 1990. "Health Effects from Hazardous Waste Sites". Lewis Publ, Chelsea, MI.

Anderson, M.A., Bertsch P.M., Zelazny L.W., 1993. "Multicomponent transport through soil subjected to coal pile runoff under steady saturated flow". En: Keefer, R.F., & Sajwan, K.S. (eds.), "Trace Elements in Coal and Coal Combustion Residues", pp. 137-164. Lewis Publ, Boca Raton, FL.

Anderson, C.W.N., Brooks, R.R., Stewart, R.B., Simcock, R., 1998. "Harvesting a crop of gold in plants". Nature, 395: 553–554.

Anderson, C.W.N., Brooks, R.R., Chiarucci, A., LaCoste, C.J., Leblancc, M., Robinson, B.H., Simcocke, R., Stewart, R.B., 1999. "Phytomining for nickel, thallium and gold". Journal of Geochemical Exploration, 67: 407–415.

Angle, J.S., Baker, A.J.M., Whiting, S.N., Chaney, R.L., 2003. "Soil moisture effects on uptake of metals by *Thlaspi, Alyssum*, and *Berkheya*". Plant and Soil, 256: 325–332.

Angle, J.S., Linacre, N.A., 2005. "Metal phytoextraction – A survey of potential risks". International Journal of Phytoremediation, 7: 241–254.

Arienzo, M., Adamo, P., Cozzolino, V., 2004. "The potential of *Lolium perenne* for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site". Science of The Total Environment, 319 (1-3): 13-25.

Arriagada, C.A., Herrera, M.A., Ocampo, J.A., 2007. "Beneficial effect of saprobe and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Eucalyptus globules* co-cultured wih *Glycine max* in soil contaminated with heavy metals". The Journal of Environmental Management, 84: 93–99.

Banaszan, J.E., Ritman, B.E., Reed, D.T., 1999. "Subsurface interactions of actinide species and microorganims: implications for the bioremediation of actinide-organic mixtures". Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 241: 385-435.

Baker, D.E., 1974. "Copper: soil, water, plant relationships". Proc Federation of American Societies for Experimental Biology, 33: 1188:-1193.

Baker, A.J.M., 1981. "Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to trace metals". Journal of Plant Nutrition, 3: 643–654.

Baker, A.J.M. & Brooks, R.R., 1989. "Terrestrial Higher plants which hyperaccumulate metal elements- A review of their distribution, ecology and phytochemistry". Biorecovery, 1: 81-126.

Baker, A.J.M. & Proctor, J., 1990. "The influence of cadmium, copper, lead and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in the British Isles". Plant Systematics and Evolution, 173: 91–108.

Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Sidoli, C.M.D., Reeves, R.D., 1994. "The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metalaccumulating plants". Resources, Conservation and Recycling, 11: 41– 49.

Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R.D., Smith, J.A.C., 2000. "Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils". En: Terry, N. & Bañuelos, G.S. (eds.), "Phytoremediation of Contaminated Soil and Water", pp. 85-108. Lewis Publishers, Boca Raton.

Bañuelos, G.S. & Mayland, H.F., 2000. "Absorption and distribution of selenium in animals consuming canola grown for selenium phytoremediation". Ecotoxicology and Environmental Safety, 46: 322–328.

Barceló, J. & Poschenrieder, C., 2003. "Phytoremediation: principles and perspectives". Contributions to Science, 2(3): 333-344.

Basta, N.T., Ryan, J.A., Chaney, R.L., 2005. "Trace Element Chemistry in Residual-Treated Soil: Key Concepts and Metal Bioavailability". Journal of Environmental Quality, 34: 49–63.

Baydina, N.L., 1996. "Inactivation of heavy metals by humus and zeolites in industrially contaminated soil". Eurasian soil science, 28 (1): 96-105.

Becerril, J.M., Barrutia, O., García Plazaola, J.I., Hernández, A., Olano, J.M., Garbisu, C., 2007. "Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación". Ecosistemas.2007/2(URL:http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=481&Id_Categoria=2&tipo=portada)

Becher, M., Talke, I. N., Krall, L., Krämer, U., 2004. "Cross-species microarray transcript profiling reveals high constitutive expression of metal homeostasis genes in shoots of the zinc hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*". The Plant Journal, 37: 251–268.

Belevi, H., Langmeier, M., 2000. "Factors determining the element behavior in municipal solid waste incinerators 2: Laboratory experiments". Environmental Science & Thecnology, 34: 2507-2512.

Benett, F.A., Tyler, E.K., Brooks, R.R., Gregg, P.E.H., Stewart, R.B., 1998. "Fertilisation of Hyperaccumulators to Enhance their Potential for Phytoremediation and Phytomining". En: Brooks, R., (ed.). "Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining", pp. 249–259. CAB International, Wallingford, UK.

Bernal, M.P., McGrath, S.P., Miller, A.J., Baker, A.J.M., 1994. "Comparison of the chemical changes in the rhizosphere of the nickel hyperaccumulator *Alyssum murale* with the non-accumulator *Raphanus sativus"*. Plant and Soil, 164: 251–259.

Berti, W.R. & Cunningham, S.D., 1997. "In-place inactivation of Pb in Pb-contaminated soils". Environmental Science & Thecnology, 31(5): 1359-1364.

Berti, W.R. & Cunningham, S.D., 2000. "Phytostabilization of metals". En: Raskin, I. & Ensley, B.D. (eds.), "Phytoremediation of Toxic Metals—Using Plants to Clean up the Environment", Wiley, New York.

Bingham, F.T., Mitchell, G.A., Mahler R.J., Page, A.L., 1976. En: "Proceedings of the international Conference on environmental sensing and asessessment, vol 2". Inst Elec & Electron Engrs, New York.

Bizily, S., Rugh, C.L., Meagher, R.B., 2000. "Phytodetoxification of hazardous organomercurials by genetically engineered plants". Nature Biotechnology, 18: 213–217.

Bizily, S.P., Kim, T., Kandasamy, M.K., Meagher, R.B., 2003. "Subcellular targeting of methylmercury lyase enhances its specific activity for organic mercury detoxification in plants". Plant Physiology, 131: 463–471.

Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., Raskin, I., 1997. "Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents". Environmental Science & Thecnology, 31: 860–865.

Blaylock, M.J. & Huang, J.W., 2000. "Phytoextraction of metals". En: Raskin, I. & Ensley, B.D., (eds.), "Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment", pp. 53–71. John Wiley & Sons Inc, New York, USA (2000).

Bleeker, P.M,, Assunção, A.G,L, Teiga, P.M., De Koe, T., Verkleij, J.A.C., 2002. "Revegetation of the acidic, As contaminated Jales mine spoil tips using a combination of spoil amendments and tolerant grasses". Science of the Total Environment, 300: 1–13.

BOE nº 114, 1995. "Resolución de 28 de abril de 1995, de la secretaría de Estado de Medio Ambiente y Vivienda, por la que se dispone la publicación del Acuerdo del Consejo de Ministros de 17 de febrero de 1995, por el que se aprueba el Plan Nacional de Recuperación de Suelos Contaminados".

BOE nº 96, 1998. "Ley 10/1998, de 21 de Abril, de residuos".

BOE nº 15, 2005. "Real Decreto 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados".

Bowen, H. J. M., 1979. "Environmental Chemistry of the Elements". Academic Press, London.

Boyd, R.S. & Martens, S.N., 1992. "The raison d'etre for metal hyperaccumulation by plants". En: Baker, A.J.M., Proctor, J., Reeves, R.D. (eds.), "The Vegetation of Ultramaphic (Serpentine) Soils", pp. 279-289. Intercept, Andover.

Boyd, R.S., Shaw, J.J., Martens, S.N., 1994. "Nickel hyperaccumulation defends *Streptanthus polygaloides* (*Brassicaceae*) against pathogens". American Journal of Botany, 81: 294-300.

Brady, N.C. & R.R. Weil, 2002. "The Nature and Properties of Soils". 13th Edition. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall, Inc.

Bradshaw, A.D. & Chadwick, M.J., 1980. "The Restoration of Land: The ecology and reclamation of derelict and degraded land". University of California Press, Los Angeles, CA.

Bradshaw, A., 2000. "The use of natural processes in reclamation — advantages and difficulties". Landscape and Urban Planning, 51: 89–100.

Breckle, S., 1991. "Growth under stress: heavy metals". En: Waisel, Y., Eshel, A., Kafkaffi, V., (eds.), "Plant roots: the hidden half", pp. 351-373. Marcel Dekker, Inc., New York.

Brewer, E.P., Saunders, J.A., Angle, J.S., Chaney, R.L., McIntosh, M.S., 1999. “Somatic hybridization between the zinc accumulator Thlaspi caerulescens and Brassica napous”. Theoretical and Applied Genetics, 9: 761–771.

Bridgwater, A.V., Meier, D., Radlein, D., 1999. “An overview of fast pyrolysis of biomasa”. Organic geochemistry, 30: 1479–1493.

Brooks, R. R., Lee, J., Reeves, R. D., Jaffré, T., 1977. “Detection of metalliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants”. Journal of Geochemical Exploration, 7: 49-77.

Brooks, R.R., Trow, J.M., Veillon, J.M., Jaffré, T., 1981. "Studies on manganese-accumulating *Alyxia* from New Caledonia". Taxon, 30: 420-423.

Brooks, R.R., 1987. "Serpentine and its vegetation". Dioscorides Press. Croom Helm. London and Sydney.

Brooks, R.R., 1998. “Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining”. CAB International, Wallingford, UK.

Brooks, R.R. & Robinson, B.H., 1998. “Aquatic phytoremediation by accumulator plants”. En: Brooks, R.R., (ed.) “Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining”, pp. 203–226. CAB International, Wallingford, UK.

Brown, S.L., Chaney, R.L., Angle, J.S., Baker, A.J.M., 1994. "Phytoremediation potencial of *Thlaspi caerulescens* and bladder campion for Zinc- and Cadmium- contaminated soil". Journal of Environmental Quality, 23: 1151-1157.

Bundt, M., Albrecht, A., Froidevaux, P., Blaser, P., Fluhler, H., 2000. “Impact of preferential flow on radionuclide distribution in soil”. Environmental Science & Thecnology, 34: 3895–3899.

Burken, J.G., 2003. “Uptake and metabolism of organic compounds: green-liver model”. En: McCutcheon, S.C., Schnoor, J.L. (eds.), “Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants”. Publisher by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Campbell, P.G.C., 1995. “Interactions between trace metals and aquatic organisms: A critique of the Free-ion Activity Model”. En: Tessier, A. & Turner, D.R., (eds.), “Metal speciation and bioavailability in aquatic systems”, pp. 45-102. Wiley, New York.

Cao, X., Ma, L.Q., Shiralipour, A., 2003. “Effects of compost and phosphate amendments on arsenic mobility in soils and arsenic uptake by the hyperaccumulator *Pteris vittata* L.”. Environmental Pollution, 126: 157–167.

Carlson, C. & Adriano, D.C., 1993. ”Environmental Impacts of Coal Combustion Residues”. Journal of Environmental Quality, 22: 227-247.

CEC (Commission of the European Communities), 1986. “Council Directive of 12 June 1986, on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture”. Official journal of the European Communities, L181 (86/2781EEC): 6–12.

CEC (Comisión de las Comunidades Europeas), 2002. “Comunicación de la Comisión al Consejo, el Parlamento Europeo, el Comité Económico y Social y el Comité de las Regiones - Hacia una estrategia temática para la protección del suelo”. Bruselas, 16.4.2002 - COM(2002) 179 final.

CEC (Comisión de las Comunidades Europeas), 2002. “Comunicación de la Comisión al Consejo, el Parlamento Europeo, el Comité Económico y Social y el Comité de las Regiones - Estrategia temática para la protección del suelo – Valoración del impacto de la estrategia temática para la protección del suelo”. Bruselas, 22.9.2006 - COM(2006) 231 final.

CEC (Commission of the European Communities), 2004. “Directive 2004/35/CE of the European Parliament and of the Council of 21 April 2004 on environmental liability with regard to the prevention and remedying of environmental damage”. Official Journal L 143 , 30/04/2004: 0056 – 0075.

CH2M Hill, 2001. “Guidance for successful phytoremediation”. Report prepared for the American institute of chemical engineers center for waste reduction technologies. New York.

Chaney, RL. 1983. “Plant uptake of inorganic waste constituents”. En: Parr, J.F., Marsh, P.B., Kla, J.M., (eds.) “Land treatment of hazardous wastes”, pp. 50–76. Park Ridge, NJ, USA: Noyes Data Corporation.

Chaney, L.R. & Ryan, J.A., 1994. “Risk Based Standards for Arsenic, Lead and Cadmium in Urban Soils”. Dechema, Frankfurt, p. 130.

Chaney, R.L, Brown, S.L, Li, Y.M, Angle, J.S, Homer, F.A, Green, C.E, 1995. “Potential use of metal hyperaccumulators”. Mining Environmental Management, 3(3): 9-11.

Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Bakers, A.J.M., 1997. “Phytoremediation of soil metals”. Current Opinion in Biotechnology, 8: 279-284.

Chaney R. L., Angle J. S., Baker A. J. M., Li Y.-M., 1998. “Method for phytomining of nickel, cobalt and other metals from soil”. US Patents, 5: 711-784.

Chaney, R.L, Brown, S.L., Li, Y-M., Angle, J.S., Stuczynski, T.I., Daniels, W.L., Henry, C.L., Siebelec, G., Malik, M., Ryan, J.A., Compton, H., 2000. “Progress in risk assessment for soil metals, and In-situ remediation and phytoextraction of metals from hazardous contaminated soils”. U.S-EPA “Phytoremediation: State of Science”, May 1-2, 2000, Boston, MA

Chaney, R.L., Li, Y.-L., Angle, J.S., Baker, A.J.M., Reeves, R.D., Brown, S.L., Homer, F.A., Malik, M., Chin, M., 2000. “Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: Approaches and progress”. En: Terry, N. & Bañuelos, G.S., (eds.), “Phytoremedianotion of Contaminated Soil and Water”, pp. 131-160. CRC Press, Boca Raton, FL.

Chaney, R.L., Angle, J.S., McIntosh, M.S., Reeves, R.D., Lid, Y.M., Brewer, E.P., Chen, K.Y., Roseberg, R.J., Perner, H., Synkowski, E.C., Broadhurst, C.L., Wang S., Baker, A.J.M., 2005. “Using Hyperaccumulator Plants to Phytoextract Soil Ni and Cd”. Zeitschrift für Naturforschung C, 60: 190-198.

Chang A.C., Page A.L., Asano, T., 1993. “Developing Human Health-related chemical guidelines for reclaimed wastewater and sewage sludge application in agriculture”. World Health Organization (WHO), Geneva.

Chen, H.M., Zheng, C.R., Tu, C., Shen, Z.G., 2000. “Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals”. Chemosphere, 41: 229–234.

Chen, H. & Cutright, T., 2001. “EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus*”. Chemosphere. 45: 21–28.

Chen, H. & Cutright, T., 2002. “The interactive effects of chelator, fertilizer, and rhizobacteria for enhancing phytoremediation of heavy metal contaminated soil”. Journal of Soils and Sediments, 2: 203–210.

Chen, Y., Li, X., Shen, Z., 2004. “Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process”. Chemosphere, 57: 187–196.

Chen, Y.X, Wang, Y.P., Lin, Q., Luo, Y.M., 2005. “Effect of copper-tolerant rhizosphere bacteria on mobility of copper in soil and copper accumulation by *Elsholtzia splendens*”. Environment International, 31: 861 – 866.

Chen, B.D., Zhu, Y.G., Smith, F.A., 2006. “Effects of abuscular mycorrhizal inoculation on uranium and arsenic accumulation by Chinese brake fern (*Pteris vittata* L.) from a uranium mining-impacted soil”. Chemosphere, 62: 1464–1473.

Chiu, K.K., Ye, Z.H., Wong, M.H., 2005. “Enhanced uptake of As, Zn, and Cu by *Vetiveria zizanoides* and *Zea mays* using chelating agents”. Chemosphere, 60: 1365–1375.

Chiu, K.K., Ye, Z.H., Wong, M.H., 2006. “Growth of *Vetiveria zizanioides* and *Phragmities australis* on Pb/Zn and Cu mine tailings amended with manure compost and sewage sludge: A greenhouse study”. Bioresource Technology, 97(1): 158-170.

Ciéslínski, G., Van Rees, K.C.J., Szmigielska, A.M., Krishnamurti, G.S.R., Huang, P.M., 1998. “Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation”. Plant and Soil, 203: 109–117.

Clemente, R. & Bernal, M.P., 2006. “Fractionation of heavy metals and distribution of organic carbon in two contaminated soils amended with humic acids”. Chemosphere, 64: 1264–1273.

Comis, D., 1996. “Green remediation: Using plants to clean the soil”. Journal of soil and water conservation, 51(3): 184-187.

Comunidad de Madrid, 2001. “Plan Regional de actuación en materia de suelos contaminados de la Comunidad de Madrid 2001 – 2006”. Consejería de Medio Ambiente - Junio 2001.

Conesa, H.M., Faz, Á., Arnaldos, R., 2006. “Heavy metal accumulation and tolerance in plants from mine tailings of the semiarid Cartagena-La Union mining district (SE Spain)”. Science of the Total Environment, 366: 1–11.

Conesa, H.M., Faz, A., Arnaldos, R., 2007. “Initial studies for the phytostabilization of a mine tailing from the Cartagena-La Union Mining District (SE Spain)”. Chemosphere, 66: 38–44.

Cooper, E.M., Sims, J.T., Cunningham, S.D., Huang, J.W., Berti, W.R., 1999. “Chelate-assisted phytoextraction of lead from contaminated soils”. Journal of Environmental Quality, 28: 1709–1719.

Cotter-Howells, J.D., Champness, P.E., Charnock, J.M., Pattrick, R.A.D., 1994. “Identification of pyromorphite in mine-waste contaminated soils by Atem and Exafs”. European Journal of Soil Science, 45: 393–402.

Cotter-Howells, JD. & Caporn, S., 1996. “Remediation of contaminated land by formation of heavy metal phosphates of outstanding interest”. Applied Geochemistry, 11: 335–342.

Craciun, A.R., Courbot, M., Bourgis, F., Salis, P., Saumitou-Laprade, P., Verbruggen, N., 2006. “Comparative cDNA-AFLP analysis of Cd-tolerant and -sensitive genotypes derived from crosses between the Cd hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* and *Arabidopsis lyrata ssp. petraea*”. Journal of Experimental Botany, 57(12): 2967-2983.

Crowley, D.E., Wang, Y.C., Reid, C.P.P., Szaniszlo, P.J., 1991. “Siderophore-iron uptake mechanisms by microorganisms and plants”. Plant and Soil, 130: 179–198.

Cunningham, SD., Berti, WR., Huang, JW., 1995. “Phytoremediation of contaminated soils”. Trends in Biotechnology, 13: 393-397.

Cunningham, S.D., Anderson, T.A., Schwab, A.P., Hsu, F.C., 1996. “Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants”. Advances in Agronomy, 56: 55-114.

Cunningham, SD. & Ow, DW., 1996. “Promises and prospects of phytoremediation”. Plant Physiology, 110 (3): 715–719.

Cunningham, S.D., Shann, J.R., Crowley, D.E. and Anderson, T.A., 1997. “Phytoremediation of contaminated water and soil”. Journal of Environmental Quality, 28: 760–766.

Cunningham, S.D. & Berti, W.R., 2000. “Phytoextraction and phytostabilization: technical, economic, and regulatory considerations of the soil-lead issue”. En: Terry, N. & Bañuelos, G. (eds.), “Phytoremediation of Contaminated Soil and Water”, pp. 359–376. Lewis Publisher, CRC Press, USA (2000).

Davies Jr., T., Puryear, J.D., Newton, R.J., Egilla, J.N., Saraiva Grossi, J.A., 2001. “Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*)”. Journal of Plant Physiology, 158(6): 777-786.

Delorme, T.A., Gagliardi, J.V., Angle, J.S., Chaney, R.L., 2001. “Influence of the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl. and the non metal accumulator *Trifolium pratense* L. on soil microbial population”. Canadian Journal of Microbiology, 47: 773–776.

DeMars, BG. & Boerner, REJ., 1996. “Vesicular-arbuscular mycorrhizal development in the *Brassicaceae* in relation to plant life span”. Flora, 191: 179–189.

De Souza, M.P., Huang, C.P.A., Chee, N., Terry, N., 1999. “Rhizosphere bacteria enhance the accumulation of selenium and mercury in wetland plants”. Planta, 209: 259-263.

De Varennes, A., Torres, M.O., Coutinho, J.F., Rocha, M.M.G.S., Neto, M.M.P.M., 1996. “Effects of heavy metals on the growth and mineral composition of a nickel hyperaccumulator”. Journal of Plant Nutrition, 19: 669–676.

Dhankher, O.P., Li, Y., Rosen, B.P., Shi, J., Salt, D., Senecoff, J.F., Sashti, N.A., Meagher, R.B., 2002. "Engineering tolerance and hyperaccumulation of arsenic in plants by combining arsenate reductase and c-glutamylcysteine synthetase expression". Nature Biotechnology, 20: 1140–1145.

Dickinson, N.M., Punshon, T., Hodkinson, R.B., Lepp, N.W., 1994. "Metal tolerance and accumulation in willows". En: "Proc. Willow vegetation filters for municipal wastewater and sludges – A biological purification system". Swed. Univ. Agric. Sci., Uppsala: 121–127.

Dickinson, N.M., Pulford, I.D., 2005. "Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail". Environment International, 31: 609– 613.

Dington, J., 1990. "Nutrient supply to plants", En: Harrison, A.F., Ineson, P., Heal, O.W. (eds.), "Nutrient cycling in terrestrial ecosystems". Elsevier Applied Science, London, 1990.

Dudka, S. & Adriano, D.C., 1997. "Environmental Impacts of Metal Ore Mining and Processing: A Review". Journal of Environmental Quality, 26: 590-602.

Duñabeitia, M., Rodríguez, N., Salcedo, I., Sarrionandia, E., 2004. "Filed mycorrhization and its influence on the establishment and development of the seedlings in a broadleaf plantation in the Basque Country Forest". Ecology and Management, 195: 129-139.

Dushenkov, V., Nanda Kumar, P.B.A., Motto, H., Raskin, I., 1995. "Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams". Environmental Science & Thecnology, 29: 1239–1245.

Dushenkov, S. & Kapulnik, Y., 2000. "Phytofiltration of metals". En: Raskin, I. & Ensley, BD. (eds.), "Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment". New York, NY: Wiley.

Dushenkov, S., Skarzhinskaya, M., Glimelius, K., Gleba, D., Raskin, I., 2002. "Bioengineering of a phytoremediation plant by means of somatic hybridization". International Journal of Phytoremediation, 4: 117–126.

Ebbs, S.D., Lasat, M.M., Brady, D.J., Cornish, J., Gordon, R., Kochian, L.V., 1997. "Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated site". Journal of Environmental Quality, 26: 1424–1430.

Ebbs, S.D., Lasat, M.M., Brandy, D.J.; Cornish, J., Gordon, R., Kochian, L.V., 1997. "Heavy metals in the environment: Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated soil". Journal of Environmental Quality, 26: 1424-1430.

Ebbs, S.D. & Kochian, L.V., 1997. "Toxicity of Zinc and Copper to *Brassica* Species: Implications for Phytoremediation". Journal of Environmental Quality, 26: 776-781.

Ebbs, S.D., Kochian, L.V., 1998. "Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), and Indian mustard (*Brassica juncea*)". Environmental Science & Thecnology, 32: 802–806.

Eberts, S.M., Harvey, G.J., Jones, S.A., Beckman, S.W., 2003. "Multiple-Process Assessment for a Chlorinated-Solvent Plume". En: McCutcheon, S.C., Schnoor, J.L. (eds.), "Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants". Publisher by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

E.E.A. (European Environmental Agency), 1995. "Europe's Environment: the Dobris Assessment - Chapter 7: Soil". Edited by David Stanners and Philippe Bourdeau, 1995.

E.E.A (European Environmental Agency), 1999. "Environment in the European Union at the Turn of the Century". Copenhagen, 1999.

Ensley, B.D., Blaylock, M.J., Dushenkov, S., Kumar, N.P.B.A., Kapulnik, Y., 1999. "Inducing hyperaccumulating of metals in plant shoots". US Patent 5917117. Date issued: 29 June 1999.

Entry, J.A, Vance, N.A, Hamilton, M.A., Zabowsky, D.,Watrud, L.S., Adriano, D.C., 1996. "Phytoremediation of soil contaminated with low concentrations of radionucleides". Water, Air, and Soil Pollution. 88: 167–176.

E.P.A (Environmental Protection Agency), 1997. "Electrokinetic laboratory and field processes applicable to radioactive and hazardous mixed waste in soil and groundwater". EPA 402/R- 97/006. Washington, DC.

E.P.A (Environmental Protection Agency), 2005. “Road map to understanding innovative technology options for brownfields investigation and cleanup”. Office of Solid Waste and Emergency Response, Office of Superfund Remediation and Technology Innovation, 2005. EPA-542-B-05-001.

Eriksson, J.E., 1988. “The effect of clay, organic matter and time on adsorption and plant uptake of Cd added soils”. Water, Air, and Soil Pollution. 40: 359–373.

Ernst, W.H.O., 1996. “Bioavailability of heavy metals and decontamination of soil by plants”. Applied Geochemistry, 11: 163–167.

Ernst, W.H.O., 2005. “Phytoextraction of mine wastes – Options and impossibilities”. Chemie der Erde, 65(S1): 29–42.

Essington, M.E., 2004. “Soil and water chemistry: An integrative approach”. CRC Press, Boca Raton, FL.

Evangelou, M.W.H., Daghan, H., Schaeffer, A., 2004. “The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil”. Chemosphere, 57: 207–213.

Evangelou, M.W.H., Ebel, M., Schaeffer, A., 2006. “Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*”. Chemosphere, 63: 996–1004.

Evans, L. J., 1989. "Chemistry of metal retention by soils". Environmental Science & Thecnology, 23: 1046-1056.

Evans, L.J., Spiers, G.A., Zhao, G., 1995. “Chemical aspeects of heavy metal solubility with reference to sewage sludge amended soils”. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 59: 291-302.

Everhart, J.L., McNear Jr., D., Peltier, E., van der Lelie, D., Chaney, R.L., Sparks, D.L., 2006. “Assessing nickel bioavailability in smelter-contaminated soils”. Science of the Total Environment 367 (2006): 732–744

Fitz, W., Wenzel, W.W. , Zhang, H., Nurmi, J., Stipek, K ., Fischerova, Z., Schweiger, P., Köllensperger, G., Ma, L.Q., Stingeder, G., 2003. “Rhizosphere characteristics of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and monitoring of phytoremoval efficiency”. Environmental Science & Thecnology, 37: 5008-5014.

Flores-Tavizón, E., Alarcón-Herrera, M.T., González-Elizondo, S., Olguín, E.J., 2003. “Arsenic tolerating plants from mine sites and hot springs in the semi-arid Region of Chihuahua, Mexico”. Acta Biotechnologica, 23: 113–119.

Francesconi, K., Visoottiviseth, P., Sridokchan, W., Goessler, W., 2002. “Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: A potential phytoremediator of arsenic-contaminated soils”. Science of the Total Environment, 284: 27–35.

Frank, R., Ishida, K., Suda, P., 1976. “Metals in agricultural soils of Ontario”. Canadian Journal of Soil Science, 56: 181-196.

Freedman, B. & Hutchinson, T.C., 1981. "Sources of metal and elemental contamination of terrestrial environments". En: Lepp N.W. (ed.), “Effect of Heavy metal Pollution on Plants”, Vol. 2. Applied Science, London.

Freitas, H., Nabais, V., Paiva, J., 1991. “Heavy metals pollution in the urban areas and roads of Portugal using *Nerium oleander* L.” En: Farmer, J.G. (ed.), “Proceedings of the International Conference Heavy metals in the Environment. (8º, 12th - 16th September, 1991)”, pp. 240-242. CEP consultants Ltd. Edinburgh., 1991. vol. 1.

Freitas, H., Prasad, M.N.V., Pratas, J., 2004. “Plant community tolerant to trace elements growing on the degraded soils of Sao Domingos mine in the south east of Portugal: environmental implications” Environment International, 30: 65– 72.

Frérot, H., Lefébvre, Gruber, C., Collin, W. C., Dos Santos, A., Escarre, J., 2006. “Specific interactions between local metallicolous plants improve the phytostabilization of mine soils”. Plant and Soil, 282: 53–65.

Gabbrielli, R., Gori, P., Scala, A., 1995. “Ni toxicity on carnation (*Dyanthus-cariophyllus* L. cv *corrida*) cell-cultures-selection of Ni tolerant lines and effects of Ca and Mg”. Plant Science, 104: 225–230.

Gadde, R.R & Laitinen, H.A., 1974. “Studies of heavy metal adsorption by hydrous iron and manganese oxides”. Analytical Chemistry, 46: 2022-2026.

Galli, U., Schüepp, H., Brunold, C., 1994. “Heavy metal binding by mycorrhizal fungi”. Physiologia Plantarum, 92(2): 364 – 368.

Gamble, D.S., 1986. "Interactions between natural organic polymers and metals in soil and fresh water systems: equilibria". En: Bernhard, M., Brinkman, F.E., Sadler, P.J. (eds.), “The importance of chemical speciation in environmental processes”. Dahlem Konferenzen , Springer-Verlag, Berlin.

Garbisu, C. & Alkorta, I., 2001. “Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment”. Bioresource Technology, 77: 229-236.

García, G., Zanuzzi, A.L., Faz, A., 2005. “Evaluation of heavy metal availability prior to an in situ soil phytoremediation program”. Biodegradation, 16: 187–194.

Galán, E., Gómez Ariza, J.L., González, I., Fernández-Caliani, J.C., Morales, E., Giradles, I., 2003. “Heavy metal partitioning in river sediments severely polluted by acid mine drainage in the Iberian Pyrite Belt”. Applied Geochemistry, 18: 409–421.

Garten, C.T., 1999. “Modeling the potential role of a forest ecosystem in phytostabilization and phytoextraction of ^{90}Sr at a contaminated watershed”. Journal of environmental radioactivity, 43: 305-323.

Geebelen, W., Adriano, D.C., Van der Lelie, D., Mench, M., Carleer, R., Clijsters, H., Vangronsveld, J., 2003. “Selected bioavailability assays to test the efficacy of amendment-induced immobilization of lead in soils”. Plant and Soil, 249: 217–228.

Ghaderian, S.M., Mohtadi, A., Rahiminejad, M.R., Baker, A.J.M., 2007. “Nickel and other metal uptake and accumulation by species of *Alyssum* (*Brassicaceae*) from the ultramafics of Iran”. Environmental Pollution, 145: 293-298.

Ghosh, M. & Singh, S.P., 2005. “A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts”. Applied Ecology and Environmental Research, 3(1): 1-18.

Glass, D.J., 1999. “Economic potential of phytoremediation”. En: Raskin, I. & Ensley, B.D., (eds.), “Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment”, pp 15-31. John Wiley & Sons Inc, New York, NY.

Gleba, D., Borisjuk, N.V., Borisjuk, L.G., Kneer, R., Poulev, A., Skarzhinskaya, M., Dushenkov, S., Logendra, S., Gleba, Y.Y., Raskin, I., 1999. “Use of plant roots for phytoremediation and molecular farming”. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96(11): 5973-5977.

Gleyzes, C., Tellier, S., Astruc, M., 2002. “Sequential extraction procedures for the characterisation of the fractionation of elements in industrially-contaminated soils”. En: Quevauviller Ph. (ed.), “Methodologies in Soil and Sediment Fractionation Studies”, pp. 66–104. Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Glick, B.R., 1995. “The enhancement of plant growth by free living bacteria”. Canadian Journal of Microbiology, 41: 109-117.

González-Chávez, M.C.A., Vangronsveld, J., Colpaert, J., Leyval, C., 2006. “Arbuscular mycorrhizal fungi and heavy metals: Tolerante mechanisms and potencial use in bioremediation”. En: Prasat, M.N.V., Sajwan, K.S., Naidu, R., (eds.), “Trace elements in the environment, Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation”. CRC Press. Taylor & Francis Group. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300. Boca Raton, FL 33487-2742.

Gorlach, E. & Gambus, F., 1992. “A study of the effect of sorption and desorption of selected heavy metals in soils on their uptake by plants”. Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych, 398: 47–52.

Gough, L.P., 1993. “Understanding our fragile environment, lessons from geochemical studies”. USGS Circular 1105, United States Government Printing Office. Washington, DC.

Greman, H., Velikonja-Bolta, S., Vodnik, D., Kos, B., Lestan, D., 2001. “EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity”. Plant and Soil, 235: 105–114.

Greman, H., Vodnik, D., Velikonja-Bolta, S., Lestan, D., 2003. “Ethylenediaminedissuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction”. Journal of Environmental Quality, 32: 500–506.

Greger, M. & Landberg, T., 1999. "Use of willow in Phytoextraction". International Journal of Phytoremediation, 1(2): 115-123.

Halim, M., Conte, P., Piccolo, A., 2003. “Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils induced by exogenous humic substances”. Chemosphere, 52: 265–275.

Hammer, D. & Keller, C., 2002. “Changes in the rhizosphere of metal-accumulating plants evidenced by chemical extractants”. Journal of Environmental Quality, 31: 1561–1569.

Hammer, D., Keller, C., McLaughlin, M.J., Hamon, R.E., 2006. “Fixation of metals in soil constituents and potential remobilization by hyperaccumulating and non-hyperaccumulating plants: Results from an isotopic dilution study”. Environmental Pollution, 143: 407-415.

Harper, F.A., Smith, S.E., Macnair, M.R., 1997. “Where is the cost in copper tolerance in *Mimulus guttatus*? Testing the trade-off hypothesis”. Functional Ecology, 11: 764– 774.

Haygarth & Jones, K.C., 1992. “Atmospheric deposition of metals to agricultural surfaces”. En: Adriano, D.C. (ed.), “Biogeochemistry of trace metals”, pp. 249-276. Lewis Publ, Boca Raton, FL.

He, Q.B. & Singh, B.R., 1993. “Plant availability of cadmium in soil, I. Extractable cadmium in newly and long-term cultivated soils”. Acta agriculturae Scandinavica, Section B, Soil and Plant Science, 43: 134–141.

He, Z.L., Zhou, Q.X., Xie, Z.M., 1998. “Chemical equilibrium of beneficial and pollution elements in soil”. Chinese Environmental Science Press, Beijing: 1998.

Heaton, A.C.P., Rugh, C.L., Wang, N., Meagher, R.B., 1998. “Phytoremediation of mercury- and methylmercury-polluted soils using genetically engineered plants”. Journal of Soil Contamination, 7: 497–509.

Helsen, L., Van den Bulck, E., Van den Broeck, K., Vandecasteele, C., 1997. “Low-temperature pyrolysis of CCA treated wood waste: chemical determination and statistical analysis of metal input and output: mass balances”. Waste Management, 17(1): 79–86.

Henriques, F.S. & Fernandes, J.C., 1991. “Metal uptake and distribution in rush (*Juncus conglomeratus* L.) plants growing in pyrites mine tailings at Lousal, Portugal”. Science of the Total Environment, 102: 253–260.

Herms, U. & Brümmer, G., 1984. “Einfluûgröûen der Schwermetalll öslichkeit und -bindung in Böden”. Z. Pflanzenernähr Bodenkd, 147, 400-424.

Hetland, M.D., Gallagher, J.R., Daly, D.J., Hassett, D.J., Heebink, L.V., 2001. “Processing of plants used to phytoremediate lead-contaminated sites”. En: Leeson, A., Foote, E.A., Banks, M.K., Magar, V.S. (eds.), “Phytoremediation, Wetlands, and Sediments”, pp. 129–136. The Sixth International in situ and on-site Bioremediation Symposium, San Diego, California, 4–7 June. Battelle Press, Columbus, Richland.

Hofstede, H. & Ho, G., 1991. "The effect of addition of bauxite refining residue (red mud) on the behaviour of heavy metals in compost". En: Vernet, J.P. (ed.), “Heavy metals in the environment”. Elsevier Science Publishers B. V.

Huang, J.W., Chen, J.J., Berti, W.B., Cuningham, S.D., 1997. “Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction”. Environmental Science & Thecnology, 31: 800-805.

Huang, J.W., Blaylock, M.J., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., 1998. “Phytoremediation of uranium-contaminated soils: role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants”. Environmental Science & Thecnology, 32, 2004–2008.

Iimura, Y., Ikeda, S., Sonoki, T., Hayakawa, T., Kajita, S., Kimbara, K., Tatsumi, K., Katayama, Y., 2002. “Expression of a gene for Mn-peroxidase from *Coriolus versicolor* in transgenic tobacco generates potential tools for phytoremediation”. Applied Microbiology and Biotechnology, 59: 246–251.

InterCOST, 2000. "Workshop on Bioremediation", Sorrento, Italy, 15-18 November (http://lbewww.epfl.ch/COST837/intercost_report.htm).

ITRC Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group / Phytoremediation Work Team, 1999. "Phytoremediation Decision Tree". Homepage ITRC http://www.itrcweb.org. Document mirrored at http://www.imt.dtu.dk/courses/63190/stt/research2.htm (March 2001).

Iyer, P.V.R., Rao, T.R., Grover, P.D., 2002. "Biomass Thermochemical characterization". Third edition.

Jankong, I.P., Visoottiviseth, P., Khokiattiwong, S., 2007. "Enhanced phytoremediation of arsenic contaminated land". Chemosphere, 68(10): 1906-1912.

James, B.R., 1996. "The challenge of remediating chromium-contaminated soil", Environmental Science & Thecnology, 30: 248–251.

James, B., 2001. "Chemical transformation of chromium in soils: relevance to mobility, bioavailability, and remediation". International Chromium Development Association, Chromium File Paper No. 8, pp. 1–8.

Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., Barea, J.M., 2003. "The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility". Biology and Fertility of Soils, 37: 1–16.

Jenne, E.A., 1968. "Controls on Mn, Fe, Co, Ni, Cu and Zn concentrations in soils and water. The significant role of hydrous Mn and Fe oxides". Advances in Chemistry Series, 73: 337-387.

Johnson, M.S., Cooke, J.A., Stevenson, J.K.W., 1992. "Revegetation of metalliferous wastes and land after mining". Harrison, R.M. (ed.), "Mining and its Environmental impacts". Royal Society of Chemistry, London, 1992.

Kaasalainen, M. & Yli-Halla, M., 2003. "Use of sequential extraction to assess metal partitioning in soils". Environmental Pollution, 126: 225–233.

Kabata Pendias, A. & Pendias, H., 1992. "Trace elements in soils and plants". CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.

Kaldorf, M., Kuhn, A., Schroder, W.H., Hildebrandt, U., Bothe, H., 1999. "Selective element deposits in maize colonized by a heavy metal tolerance conferring arbuscular mycorrhizal fungus". Journal of Plant Physiology, 154: 718–728.

Kalin, M., 2002. "Pollution control – wetlands and ecological engineering". En: Proceedings of the American Ecological engineering society annual meeting, "Ecological engineering: Implementing the profession". April 28-30, University of Vermont, Burlington.

Kamnev, A.A., & van der Lelie, D., 2000. "Chemical and biological parameters as tools to evaluate and improve heavy metal phytoremediation". Bioscience Reports, 20(4): 239-258.

Käppeli, O. & Auberson, L., 1998. "How safe is safe enough in plant genetic engineering?". Trends in Plant Science, 3(7): 276-281.

Karataglis, S.S., 1982. "Combined tolerance to Copper, Zinc and Lead by populations of *Agrostis tenuis*". Oikos, 38(2): 234-241.

Karenlampi, S., Schat, H., Vangronsveld, J., Verkleij, J.A.C., van der Lelie, D., Mergeay, M., Tervahauta, A.I., 2000. "Genetic engineering in the improvement of plants for phytoremediation of metal polluted soils". Environmental Pollution, 107: 225–231.

Kayser, A., Wenger, K., Keller, A., Attinger, W., Felix, H.R., Gupta, S.K., Schulin, R., 2000. "Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd and Cu from calcareous soil: the use of NTA and sulfur amendments". Environmental Science & Thecnology, 34: 1778–1783.

Keeling, S.M., Stewart, R.B., Anderson, C.W.N., Robinson, B.H., 2003. "Nickel and Cobalt phytoextraction by the hyperaccumulator *Berkheya coddii*: Implications for polymetallic phytomining and phytoremediation". International Journal of Phytoremediation, 5(3): 235–244.

Keller, C. & Hammer, D., 2005. “Alternatives for phytoextraction: Biomass plants versus hyperaccumulators”. Geophysical Research Abstracts, 7: 03285.

Keller, C., Ludwig, C., Davoli, F., Wochele, J., 2005. “Thermal Treatment of Metal-Enriched Biomass Produced from Heavy Metal Phytoextraction”. Environmental Science & Thecnology, 39: 3359-3367.

Keller, C., 2006. “Efficiency and limitations of phytoextraction by high biomass plants: the example of willows”. En: Prasat, M.N.V., Sajwan, K.S., Naidu, R., (eds.) “Trace elements in the environment, Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation”.CRC Press. Taylor & Francis Group. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300. Boca Raton, FL 33487-2742.

Kelly, M. 1988. “Mining and the freshwater environment”. Elsevier, Essex, United Kingdom.

Khan, A.G., Kuek, C., Chaudhry, T.M., Khoo, C.S., Hayes, W.J., 2000. “Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation”. Chemosphere, 41(1-2): 197-207.

Khan, A.G., 2005. “Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation”. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 18: 355–364.

Kidd, P.S., Monterroso, C., 2005. “Metal extraction by *Alyssum serpyllifolium* ssp *lusitanicum* on mine-spoil soils from Spain”. Science of the Total Environment, 336: 1-11.

Kloke, A., Sauerbeck, D.R., Vetter, H., 1984. “The contamination of plant and soil with heavy metals and the transport of metals in terrestrial food chain”. En: Nriagu, J.O., (ed.), “Changing Metal Cycles and Human Health”, pp. 113-141. Springer-Verlag, Berlin.

Knight, B. & McGrath, SP., 1995. “A method to buffer the concentrations of free Zn and Cd ions using a cation exchange resin in bacterial toxicity studies”. Environmental Toxicology and Water Quality, 8: 223–230.

Knight, K., Zhao, F.J., McGrath, S.P., Shen, Z.G., 1997. “Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* in contaminated soils and its effects on the concentration and chemical speciation of metals in soil solution”. Plant and Soil, 197: 71–78.

Knox, A.S., Seaman, J., Adriano, D.C., Pierzynski, G., 2000. “Chemophytostabilization of metals in contaminated soils”. En: Wise, D.L.., Trantolo, D.J., Cichon, E.J., Inyang, H.I., Stottmeister, U., (eds.), “Bioremediation of contaminated soils”, pp. 811–836. Marcel Dekker, New York.

Kohsiek, L.H.M., Fraters, D., Franken, R., Latour, J., Van der Linden, A.M.A., Reiling, R., Willens, W.J., 1994. “The pollution of soils and groundwater in the European Community”. En: Donker, M.H., Eijsackers, H., Heimbach, F. (eds.) “Ecotoxicology of soils organisms”, pp. 35-70. Lewis Publ, Boca Raton, F.L.

Kopponen, P., Utriainen, M., Lukkari, K., Suntioinen, S., Kärenlampi, L., Kärenlampi, S., 2001. “Clonal differences in copper and zinc tolerance of birch in metal-supplemented soils”. Environmental Pollution, 112: 89-97.

Koppolu, L. & Clements, L.D., 2003. “Pyrolysis as a technique for separating heavy metals from hyperaccumulators. Part 1: Preparation of synthetic hyperaccumulator biomass”. Biomass and Bioenergy, 24, 69-79.

Koptsik, S., Koptsik, G., Livantsova, S., Eruslankina, L., Zhmelkova, T., Vologdina, Zh., 2003. “Heavy metals in soils near the nickel smelter: chemistry, spatial variation, and impacts on plant diversity”. Journal of Environmental Monitoring, 5(3): 441-50.

Kos, B., Lestan, D., 2004. “Chelator induced phytoextraction and in situ soil washing of Cu”. Environmental Pollution, 134: 333–339.

Krämer, U., Cotter-Howells, J.D., Charnock, J.M., Baker, A.J.M., Smith, J.A.C., 1996. “Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel”. Nature, 379: 635–638.

Krämer, U. & Chardonnens, A.N., 2001. “The use of transgenic plants in the bioremediation of soils contaminated with trace elements”. Applied Microbiology and Biotechnology, 55: 661–672.

Krämer, U., Talke, I.N., Hanikenne, M., 2007. “Transition metal transport”. FEBS Letters, 581: 2263–2272.

Kreutzer, K., 1995. “Effects of forest liming on soil processes”. En: Hüttl, R.F., Nihlsson, L.O., Johannsson, U.T. (eds.), “Nutrient Uptake and Cycling in Forest Ecosystems”, pp. 447–470.

Kukier, U., Peters, C.A., Chaney, R.L., Angle, J.S, Roseberg, R.J., 2004. “The effect of pH on metal accumulation in two *Alyssum* species”. Journal of Environmental Quality, 33: 2090–2102.

Kumar, P.B.A.N., Dushenkov, V., Motto, H., Raskin, L., 1995. “Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils”. Environmental Science & Thecnology, 29: 1232-1238.

Kurz, H., Schulz, R., Römheld, V., 1997. “Phytoremediation of Thallium and Cadmium from Contaminated Soils - Possibilities and Limitations”. Tokyo, Japan: Council for Promotion of Utilization of Organic Materials (C.P.O.U.M.). Sept. 1997: 120-132.

Kurz, H., Schulz, R., Römheld, V., 1997. “Studies on thallium uptake by various crop plants for risk assessment of the food chain”. World Wide Web at:
http://www.uni-hohenheim.de/institutes/plant_nutrition/hinstres.htm

Lai, H.Y., Chen, Z.S., 2005. “The EDTA effect on phytoextraction of single and combined metals-contaminated soils using rainbow pink (*Dianthus chinensis*)”. Chemosphere. 80: 1062–1071.

Laperche, V., Logan, T.J., Gaddam, P., Traina, S.J., 1997. "Effect of apatite amendments on plant uptake of lead from contaminated soil". Environmental Science & Thecnology, 31: 2745-2753.

Lasat, M.M.; Norvell, W.A., Kochian, L.V., 1997. “Potential for phytoextraction of ^{137}Cs from a contaminated soil”. Plant and Soil, 195(1): 99-106.

Lasat, M.M., Baker, A.J.M., Kochian, L.V., 1998. “Altered Zn compartmentation in the root symplasm and stimulated Zn absorption into the leaf as mechanisms involved in Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*”. Plant Physiology, 118: 875-883.

Lasat, M.M., 2002. “Phytoextraction of Toxic Metals: A Review of Biological Mechanisms”. Journal of Environmental Quality, 31: 109–120.

Lebourg, A., Sterckeman, T., Cielsielki, H., Proix, N., 1996. “Intérêt de différents réactifs d'extraction chimique pour l'évaluation de la biodisponibilité des métaux en traces du sol”. Agronomie, 16: 201–215.

Lepp, N.W. & Dickinson, N.M., 2003. “Natural bioremediation of metal polluted soils – a case history from the UK”. En: Mench, M. & Mocquut, B. (eds.), “Risk Assessment and Sustainable Land Management Using Plants in trace Element Contaminated Soils”, Cost Action 837, 4th WG2 Workshop, INRA, Bordeaux, France [ISBN 2-9520207-01]

Legrand, P., Tiirme, M.-C., Sauve, S., Courchesne, E., 2005. “Speciation and bioavailability of trace metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) in the rhizosphere of contaminated soils”. En: Huang, RM. & Gobran, G.R. (eds.), “Biogeochemistry of Trace Elements in the Rhizosphere”. 2005 Elsevier B.V.

Leita, L., De Nobili, M., Pardini, G., Ferrari, F., Sequi, P., 1989. “Anomalous contents of heavy metals in soils and vegetation of a mine area in S.W. Sardinia, Italy”. Water, Air, and Soil Pollution, 48: 423–433.

Leita, L., Mondini, C., De Nobili, M., Simoni, A., Sequi, P., 1998. “Heavy metal content in xylem sap (*Vitis vinifera*) from mining and smelting areas”. Environmental Monitoring and Assessment, 50: 189–200.

Leung, H.M., Ye, Z.H., Wong, M.H., 2006. “Interactions of mycorrhizal fungi with *Pteris vittata* (As hyperaccumulator) in As-contaminated soils”. Environmental Pollution, 139: 1–8.

Leyval, C., Turnau, K., Haselwandter, K., 1997. “Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects”. Mycorrhiza: 7: 139–153.

Li, Y.-M., Chaney, R.L., Angle, J.S., Chen, K.-Y., Kerschner, B.A., Baker, A.J.M., 1996. “Genotypical differences in zinc and cadmium hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*”. Agronomy Abstracts: p. 27.

Li, X.L. & Christie, P., 2001. “Changes in soil solution Zn and pH and uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal red clover in Zn-contaminated soil”. Chemosphere, 42: 201–207.

Li, Y.-M., Chaney R. L., Brewer E. P., Roseberg R. J., Angle J. S., Baker A. J. M., Reeves R. D., Nelkin, J., 2003a. “Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: Economic and technical considerations”. Plant and Soil, 249: 107-115.

Li, Y-M., Chaney, R.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Nelkin, J.P., 2003b. “Phytoextraction of nickel and cobalt by hyperaccumulator *Alyssum* species grown on nickel-contaminated soils”. Environmental Science & Thecnology, 37: 1463–1468.

Li, T-Q., Yang, X-E., Jin, X-F, He, Z-L., Stoffella, P-J., Hu, Q-H., 2005. “Root responses and metal accumulation in two contrasting ecotypes of *Sedum Alfredii* hance under lead and Zinc toxic stress”. Journal of Environmental Science and Health, Part A 40: 1081–1096.

Liang Zhu, Y., Pilon-Smits, E.A., Jouanin, L., Terry, N., 1999. “Overexpression of glutathione synthetase in indian mustard enhances cadmium accumulation and tolerance”. Plant Physiology, 119(1): 73-80.

Lim, J.-M., Salido, A.L., Butcher, D.J., 2004. “Phytoextraction of lead using Indian mustard (*Brassica juncea*) with EDTA and electrodics”. Microchemical Journal, 76: 3–9.

Lin, Z.Q., Schemenauer, R.S., Cervinka, V., Zayed, A., Lee, A., Terry, N., 2000. “Selenium volatilization from the soil—*Salicornia bigelovii* for treatment system for the remediation of contaminated water and soil in the San Joaquin valley”. Journal of Environmental Quality, 29: 1048– 1056.

Lindegaard, K.N. & Barker, J.H.A., 1997. “Breeding willows for biomass”. Aspects of Applied Biology, 49: 155–162.

Ljung, A. & Nordin, A., 1997. “Theoretical feasibility for ecological biomass ash recirculation: Chemical equilibrium behavior of nutrient elements and heavy metals during combustion”. Environmental Science & Thecnology, 31: 2499-2503.

Lombi, E., Zhao, F.J., Dunham, S.J., McGrath, S.P., 2000. “Cadmium accumulation in populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*”. New Phytologist, 145: 11–20.

Lombi, E., Zhao, F.J., Dunham, S.J., McGrath, S.P., 2001. “Phytoremediation of heavy metal contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction”. Journal of Environmental Quality, 30: 1919 - 1926.

Long, X.X., Yang, X.E., Ye, Z.Q., Ni, W.Z., Shi, W.Y., 2002. “Differences of uptake and accumulation of zinc in four species of Sedum”. Acta Botanica Sinica, 44: 152-157.

López Arias, M. & Grau Corbí, J.M., 2004. “Metales pesados, materia orgánica y otros parámetros de la capa superficial de los suelos agrícolas y de pastos de la España Peninsular”. Ed. INIA.

Lothenbach, B., Krebs, R., Furrer, G., Gupta, S.K., Schulin, R., 1998. “Immobilization of cadmium and zinc in soil by Al-montmorillonite and gravel sludge”. European Journal of Soil Science, 49: 141–148.

Luo, Y.M., Christie, P., Baker, A.J.M., 2000. “Soil solution Zn and pH dynamics in non-rhizosphere soil and in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* grown in a Zn/Cdcontaminated soil”. Chemosphere, 41: 161-164.

Luo, C.L., Shen, Z.G., Li, X.D., 2005. “Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS”. Chemosphere, 59: 1–11.

Ma, L.Q., Komar, K.M., Tu, C., Zhang, W., Cai, Y., Kennelley, E.D., 2001. “A fern that hyperaccumulates Arsenic”. Nature, 409: 579.

Macías, F., Barral, T. M., Monterroso, C., y Calvo, R. M., 1992. "Metales pesados en las escombreras de la mina Puentes (A Coruña): Influencia de las condiciones Eh-pH". Suelo y planta, 2: 139-150.

Macnair, M.R., Tilstone, G.H., Smith, S.E., 2000. “The genetics of tolerance and accumulation in higher plants”. En: Terry, N. & Bafiuelos, G.S. (eds.), “Phytoremediation of Contaminated Soil and Water”, pp. 235-250. Lewis Publishers. Boca Raton.

Macnair, M.R., 2003. “The hyperaceumulation of metals by plants”. Advances in Botanical Research, 40. Incorporating Advances in Plant Pathology. ISBN 0-12-005940-1

Madrid, F., Liphadzi, M.S., Kirkham, M.B., 2003. “Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation”. Journal of Hydrology, 272: 107–119.

Malamed, R., Cao, X., Chen, M., Ma, L.Q., 2003. “Field assessment of lead immobilization in a contaminated soil after phosphate application”. Science of the Total Environment, 305(1–3): 117–127.

Malcová, R., Rydová, J., Vosátka, M., 2003. “Metal-free cultivation of *Glomus sp*. BEG 140 isolated from Mn-contaminated soil reduces tolerance to Mn”. Mycorrhiza, 13: 151–157.

Marmiroli, M., Antonioli, G., Maestria, E., Marmiroli, N., 2005. “Evidence of the involvement of plant ligno-cellulosic structure in the sequestration of Pb: an X-ray spectroscopy-based analysis”. Environmental Pollution, 134: 217–227.

Marschner, H., Treeby, M., Romheld, V., 1989. “Role of root-induced changes in the rhizosphere for iron acquisition in higher plants”. Z. Pflanzenernahr Bodenk, 152(3): 197–204.

Marschner, P., Yang, C.-H., Lieberei, R., Crowley, D.E., 2001. “Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere”. Soil Biology and Biochemistry, 33(11): 1437-1445.

Marschner, P., Crowley, D., Yang, C.H., 2004. “Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type”. Plant and Soil, 261: 199–208.

Martínez, M., Bernal, P., Almela, C., Vélez, D., García-Agustín, P., Serrano, R., Navarro-Aviño, J., 2006. “An engineered plant that accumulates higher levels of heavy metals than *Thlaspi caerulescens*, with yields of 100 times more biomass in mine soils”. Chemosphere, 64: 478–485.

Mas, A. & Azcúe, JM., 1993. “Metales en sistemas biológicos”. Promociones y Publicaciones Universitarias, S.A. LCT-74. Barcelona.

Maywald, F. & Weigel, H.J., 1997. “Biochemistry and molecular biology of heavy metal accumulation in higher plants”, Landbauforschung Volkenrode, 47: 103–126.

McBride, M.B., 1994. “Environmental chemistry of soils”. Oxford Univ. Assessment of a sequential extraction procedure for perturbed Press, New York.

McBride, M.B., 2004. “Molybdenum, sulfur, and other trace elements in farm soils and forages after sewage sludge application”. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 35: 517–35.

McGrath, S.P., Sidoli, C.M.D., Baker, A.J.M., Reeves, R.D., 1993. “The potencial for the use of metal-accumulating plants for the in situ decontamination of metal-polluted soils”. En: Eijsackers, H.J.P. & Hamers, T. (eds.), “Integrated soil and sediment research: A basis for proper protection”, pp. 673-676. Kluwer Academic Publishers.

McGrath, S.P., Shen, Z.G., Zhao, F.J., 1997. “Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils”. Plant and Soil, 180: 153–159.

McGrath, S.P., Zhao, F.J., Lombi, E., 2001. “Plant and rhizosphere characteristics involved in phytoremediation of metal-contaminated soils”. Plant and Soil, 232: 207–214.

McGrath, S.P., Zhao, F. J., Lombi, E., 2002. "Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides". Advances in Agronomy, 75: 1-56

McGrath, S.P. & Zhao, F.J., 2003. “Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils”. Current Opinion in Biotechnology, 14: 277–282.

Meagher, R.B. & Rugh, C.L., 1996. “Phytoremediation of heavy metal pollution: ionic and methyl mercury”. En: Workshop Organization for Economic Co-Operation and Development, “OECD Biotechnology for Water Use and Conservation”, Cocoyoc, Mexico (1996), pp. 305–321.

Meagher, R.B., 2000. “Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants”. Current Opinion in Plant Biology, 3: 153–162.

Meagher, R.B., Rugh, C.L., Kandasamy, M.K., Gragson, G., Wang, N.J., 2000. “Engineered phytoremediation of mercury pollution in soil and water using bacterial genes”. En: Terry, N., Bañuelos, G., (eds.), “Phytoremediation of contaminated soil and water”. pp. 201– 21. Boca Raton Lewis; 2000.

Meers, E., Vervaeke, P., Tack, F.M.G., Lust, N., Verloo, M.G., Lesage, E., 2003. “Field trial experiment: phytoremediation with Salix sp. on a dredged sediment disposal site in Flanders, Belgium”. Remediation Journal, 13: 87–97.

Meers, E., Ruttens, A., Hopgood, M.J., Samson, D., Tack, F.M.G., 2005. “Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals”. Chemosphere. 58: 1011–1022.

Meerts, P. & Van Isacker, N., 1997. “Heavy metal tolerance and accumulation in metallicolous and non-metallicolous populations of *Thlaspi caerulescens* from continental Europe”. Plant Ecology, 133: 221–231.

Meharg, A.A. & Cairney, J.W.G., 2000. “Review -Ectomycorrhizas — extending the capabilities of rhizosphere remediation?”. Soil Biology and Biochemistry, 32(11-12): 1475-1484.

Melendo, M., Benítez, E., Nogales, R., 2002. “Assessment of the feasibility of endogenous Mediterranean species for phytoremediation of lead-contaminated areas”. Fresenius Environmetal Bulletin, 11: 1105–1109.

Mench, M., Vangronsveld, J., Beckx, C., Ruttens, A., 2006a. “Progress in assisted natural remediation of an arsenic contaminated agricultural soil”. Environmental Pollution, 144: 51-61.

Mench, M., Resella, G., Gelsomino, A., Landi, L., Nannipieri, P., 2006b. “Biochemical parameters and bacterial species richness in soils contaminated by sludge-borne metals and remediated with inorganic soil amendments”. Environmental Pollution, 144: 24-31.

Menezes de Sequeira, E. & Pinto da Silva, A.R., 1992. "Ecology of serpentinized areas of north-east Portugal". En: Roberts, B. A. y Proctor, J. (eds.), “The ecology of areas with serpentinized rocks A World view”, pp. 169-197. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

Mengoni, A., Gonnelli, C., Galardi, F., Gabbrielli, R., Bazzicalupo, M., 2000. “Genetic diversity and heavy metal tolerance in populations of *Silene paradoxa* L. (*Caryophyllaceae*): a random amplified polymorphic DNA analysis”. Molecular Ecology, 9: 1319–1324.

Mengoni, A., Barzanti, R., Gonnelli, C., Gabbrielli, R., Bazzicalupo, M., 2001. “Characterization of nickel-resistant bacteria isolated from serpentine soil”. Environmental Microbiology, 3(11): 691-698.

Merian, E., 1991. “Metals and their compounds in the environment”. VCH Publ, Weinheim, Germany.

Merry, R.H., Tiller, K.G., Alston, A. M., 1983. "Accumulation of copper, lead and arsenic in some Australian orchard soils”. Australian Journal of Soil Research, 21: 549-561.

Mertens, J., Vervaeke, P., De Schrijver, A., Luyssaert, S., 2004. “Metal uptake by young trees from dredged brackish sediment: limitations and possibilities for phytoextraction and phytostabilisation”. Science of the Total Environment, 326: 209-215.

Ministerio de Medio Ambiente - Gabinete de Prensa, 2005. “El Gobierno aprueba un Real Decreto que establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios para su declaración”. Nota de Prensa Consejo de Ministros, 14 de Enero de 2005.

Mitchell, R.L., 1964. “Trace elements in soil”. En: Bear, F.E. (ed.) “Chemistry of the soil”. pp. 320-368. Reinhold Publishing Corporation, New York; Chapman and Hall, London.

Molitor, M., Dechamps, C., Gruber, W., Meerts, P., 2005. “*Thlaspi caerulescens* on nonmetalliferous soil in Luxembourg: ecological niche and genetic variation in mineral element composition”. New Phytologist, 165: 503–512.

Morgan, J.A.W., Bending, G.D., White, P.J., 1997. “Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere”. Journal of Experimental Botany: 1-11.

Mulligan, C.N., Yong, R.N., Gibbs, B.F., 2001. “Remediation for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation”. Engineering Geology, 60: 193–207

Narwal, R.P. & Singh, B.R., 1998. “Effect of organic materials on partitioning, extractability and plant uptake of metals in an alum shale soil”. Water, Air, and Soil Pollution. 103: 405–421.

Navas, A. & Lindhorfer, H., 2003. “Geochemical speciation of heavy metals in semiarid soils of the central Ebro Valley (Spain)”. Environment International, 29: 61–68.

Nehnevajova, E., Herzig, R., Federer, G., Erismann, K-H., Schwitzguébel, J-P., 2005. “Screening of sunflower cultivars for metal phytoextraction in a contaminated field prior to mutagenesis”. International Journal of Phytoremediation, 7: 337–349.

Nicks, L.J. & Chambers, M.F., 1995. “Farming for metals”. Mining Environmental Management, 15–18 September.

Norland, M.R. & Veith, D.L., 1995. “Revegetation of coarse taconite iron ore tailing using municipal solid waste compost”. Journal of Hazardous Materials, 41(2-3): 123-134.

Norvell, W.A., Wu, J., Hopkins, D.G., Welch, R.M., 2000. “Association of cadmium in durum wheat grain with soil chloride and chelate-extractable soil cadmium”. Soil Science Society of America Journal, 64: 2162–2168.

Nriagu, J.O., 1984. “Changing Metal Cycles and Human Health (Dahlem Konferenzen)”. Springer-Verlag, Berlin.

Nriagu, J.O. & Pacyna J.M., 1988. “Quantitative assessment of World-wide contamination of air, water and soils with trace metals”. Nature, 333: 134-139.

Nriagu, J.O., 1990. “Global metal pollution. Poisoning the biosphere”. Environment, 32: 7-33.

Oliveira, R.S., Dodd, J.C., Castro, P.M.L., 2001. “The mycorrhizal status of *Phragmites australis* in several polluted soils and sediments of an industrialised region of Northern Portugal”. Mycorrhiza, 10: 241–247.

Olson, P.E., Reardon, K.F., Pilon-Smits, E.A.H., 2003. “Ecology of Rhizosphere Bioremediation”. En: McCutcheon, S.C., Schnoor, J.L. (eds.), “Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants”. Publisher by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Orescanin, V., Mikelić, L., Lovrencić, I., Barisić, D., Mikulić, N., Lulić, S., 2006. “Environmental contamination assessment of the surroundings of the ex-ferrochromium smelter Dugi Rat, Croatia”. Journal of Environmental Science and Health, Part A, Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 41(11): 2547-55.

Orłowska, E., Zubek, Sz., Jurkiewicz, A., Szarek-Łukaszewska, G., Turnau, K., 2002. “Influence of restoration on arbuscular mycorrhiza of *Biscutella laevigata* L. (*Brassicaceae*) and *Plantago lanceolata* L. (*Plantaginaceae*) from calamine spoil mounds”. Mycorrhiza, 12: 153–160.

Orłowska, E., Ryszka, P., Jurkiewicz, A., Turnau, K., 2005. “Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) strains in colonisation of plants involved in phytostabilisation of zinc wastes”. Geoderma, 129(1-2): 92-98.

Ow, D.W., 1996. “Heavy metal tolerance genes: prospective tools for bioremediation”. Resources, Conservation and Recycling, 18: 135-149.

Pal, A., Paul, A.K., 2004. “Aerobic chromate reduction by chromium-resistant bacteria isolated from serpentine soil”. Microbiological Research, 159: 347—354.

Panin, M.S. & Gulkina, T.I., 2005. “Adsorption of copper by soils of the Irtysh river region, Semipalatinsk Oblast”. Eurasian Soil Science, 38(4): 364-373.

Papoyan, A., Kochian, L.V., 2004. “Identification of *Thlaspi caerulescens* genes that may be involved in heavy metal hyperaccumulation and tolerance: characterization of a novel heavy metal transporting atpase”. Plant Physiology. 136: 3814-3823.

Parker, DR., & Pedler, JF., 1997. “Revaluating the free-ion activity model of trace metal availability to higher plants”. Plant and Soil, 196: 223–228.

Pawlowska, T.E., Błaszkowski, J., Rühling, A., 1996. “The mycorrhizal status of plants colonizing a calamine spoil mound in southern Poland”. Mycorrhiza, 6: 499–505.

Pederson, G.A., Brink, G.E., Fairbrother, T.E., 2002. “Nutrient uptake in plant parts of sixteen forages fertilized with poultry litter Nitrogen, Phosphorus, Potassium, Copper, and Zinc”. Agronomy Journal, 94: 895-904.

Pence, N.S., Larsen, P.B., Ebbs, S.D, Letham, D.L.D, Lasat, M.M., Garvin, D.F., Eide, D., Kochian, L.V., 2000. “The molecular physiology of heavy metal transport in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*”. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 97: 4956–4960.

Petrisor, I.G., Dobrota, S., Komnitsas, K., Lazar, I., Kuperberg, J.M., Serban, M., 2004. "Artificial Inoculation—Perspectives in Tailings Phytostabilization". International Journal of Phytoremediation, 6(1): 1–15.

Pickering, W.P., 1986. "Metal ion speciation — soils and sediments (a review)". Ore Geology Reviews, 1: 83–146.

Piechalak, A., Tomaszewska, B., kiewicz, D.B., 2003. "Enhancing phytoremediative ability of *Pisum sativum* by EDTA application". Phytochemistry, 64(7): 1239-1251.

Pilon-Smits, E.A.H., Hwang, S., Mellytel, C., Zhu, Y., Tai, J.C., Bravo, R.C., Chen, Y., Leustek, T., Terry, N., 1999. "Overexpression of ATP sulfurylase in Indian mustard leads to increased selenate uptake, reduction and tolerance". Plant Physiology, 119: 123-132.

Pilon-Smits, E. & Pilon, M., 2000. "Breeding mercury-breathing plants for environmental cleanup". Trends in Plant Science, 5: 235– 236.

Pilon-Smits, E., 2005. "Phytoremediation" Annual Review of Plant Biology, 56:15–39.

Ping, Y., He, Z., Yang, X., 2007. "Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils – Review". Journal of Zhejiang University Science B, 8(3): 192-207.

Pletsch, M., De Araujo, B.S., Charlwood, B.V., 1999. "Novel biotechnological approaches in environmental remediation research", Biotechnology Advances, 17: 679–687.

Pollard, A.J. & Baker, A.J.M. 1997. "Deterrence of hervivory by zinc hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens* (*Brassicaceae*)". New Phytologist, 135: 655-658.

Poschenrieder, C., Tolrá, R., Barceló, J., 2006. "Can metals defend plants against biotic stress?". Trends in Plant Science, 11: 288-295.

Prasad, M.N.V., Freitas, H.M.O., 2003. "Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology". Electronic Journal of Biotechnology ISSN: 0717-3458 Vol.6 No.3.

Prasad, M.N.V., 2006. "Stabilization, remediation and integrated management of metal contaminated ecosystems by grasses (*Poaceae*). En: Prasat, M.N.V., Sajwan, K.S., Naidu, R., (eds.) "Trace elements in the environment, Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation".CRC Press. Taylor & Francis Group. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300. Boca Raton, FL 33487-2742.

Prost, R., Laperche, V., Tinet, D., 1997. "Importance of "speciation" in formulating rules for soils contaminated with trace elements". En: Iskandar I.K. & Adriano, D.C., (eds.), "Remediation of Metal-Contaminated Soils". Applied science Publ, Northwood, United Kingdom.

Pulford, I.D., Watson, C., 2003. "Phytoremediation of heavy-metal-contaminated land by trees – a review". Environment International, 29: 529-540.

Pulford, I.D. & Dickinson, N.M., 2006. "Phytoremediation Technologies using trees". En: Prasat, M.N.V., Sajwan, K.S., Naidu, R., (eds.) "Trace elements in the environment, Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation".CRC Press. Taylor & Francis Group. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300. Boca Raton, FL 33487-2742.

Puschenreiter, M., Stöger, G., Lombi, E., Horak, O., Wenzel, W.W., 2001. "Phytoextraction of heavy metal contaminated soils with *Thlaspi goesingense* and *Amaranthus hybridus*: Rhizosphere manipulation using EDTA and ammonium sulphate". Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 164: 615-621.

Puschenreiter, M., Wieczorek, S., Horak, O., Wenzel, W. W., 2003. "Chemical changes in the rhizosphere of metal hyperaccumulator and excluder *Thlaspi* species". Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 166: 579–584.

Puschenreiter, M., Schnepf, A., Millán, I.M., Fitz, W.J., Horak, O., Klepp, J., Schrefl, T., Lombi, E., Wenzel, W.W., 2005. "Changes of Ni biogeochemistry in the rhizosphere of the hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*". Plant and Soil, 271: 205–218.

Quartacci, M.F., Argilla, A., Baker, A.J.M., Navari-Izzo, F., 2006. "Phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by Indian mustard". Chemosphere, 63: 918–925.

Quevauviller, Ph., Lachica, M., Barahona, E., Rauret, G., Ure, A., Gomez, A., Muntau, H., 1996. "Interlaboratory comparison of EDTA and DTPA procedures prior to certification of extractable trace elements in calcareous soil". Science of the Total Environment, 178: 127–132.

Raskin I., Nanda Kumar, PBA., Dushenkov, S., Salt, DE., 1994. "Bioconcentration of heavy metals by plants". Current Opinion in Biotechnology, 5: 285-290

Raskin, I. 1996. "Plant genetic engineering may help with environmental cleanup". Proceedings of the National Academy of Science, 93: 3164-3166.

Raskin, I., Smith, R.D., Salt, D.E., 1997. "Phytoremediation of metals: Using plants to remove pollutants from the environment". Current Opinion in Biotechnology, 8(2): 221-226.

Raskin, I., Ensley, E.D., 2000. "Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment". John Wiley & Sons Inc; 2000.

Rauret, G., 1998. "Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment". Talanta, 46: 449–455.

Reddy, K. R., Admas, J. F., Richardson, C., 1999. "Potential technologies for remediation of Brownfield". Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management, 3(2): 61-68.

Reeves, R.D., Baker, A.J.M., 2000. "Metal-accumulating plants". En: Raskin, I., Ensley, B.D., (eds.), "Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment". pp. 193 –230. New York: Wiley, 2000.

Reeves, R.D., 1992. "The Hyperaccumulation of Nickel by Serpentine Plants". En: Baker, A.J.M., Proctor, J., Reeves, R.D. (eds.), "The Vegetation of Ultramaphic (Serpentine) Soils", pp. 253-277. Intercept, Andover.

Regvar, M., Vogel, K., Irgel, N., Wraber, T., Hildebrandt, U., Wilde, P., Bothe, Hermann, 2003. "Colonization of pennycresses (*Thlaspi spp*.) of the *Brassicaceae* by arbuscular mycorrhizal fungi". Journal of Plant Physiology, 160(6): 615-626.

Reiniger, P., 1997. En: Iskander, I.K. (ed). "Proc. 4th Intl. Conf. Biogeochemistry of trace elements", June 1997, Berkeley, CA. Univ California, Berkeley, CA.

Remona, E., Bouchardonb, J.-L., Corniera, B., Guyb, B., Leclerca, J.-C., Faurea, O., 2005. "Soil characteristics, heavy metal availability and vegetation recovery at a former metallurgical landfill: Implications in risk assessment and site restoration". Environmental Pollution, 137: 316-323.

Rigola, D., Fiers, M., Vurro, E., Aarts, M.G.M., 2006. "The heavy metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* expresses many species-specific genes, as identified by comparative expressed sequence tag analysis". New Phytologist, 170(4): 753-766.

Rizzi, L., Petruzzelli, G., Poggio, G., Vigna Guidi, G., 2004. "Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization". Chemosphere, 57: 1039–1046.

Roberts, B.A. & Proctor, J. (eds.), "The ecology of areas with serpentinized rocks A World view". Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

Robinson, B.H., Brooks, R.R., Howes, A.W., Kirkman, J.H., Gregg, P.E.H., 1997. "The potential of the high-biomass nickel hyperaccumulator *Berkheya coddii* for phytoremediation and phytomining". Journal of Geochemical Exploration, 60: 115-126.

Robinson, B.H., Chiarucci, A., Brooks, R.R., Petit, D., Kirkman, J.H., Gregg, P.E.H., DeDominicis, V. 1997. "The nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii* as a potential agent for phytoremediation and phytomining of nickel". Journal of Geochemical Exploration, 59: 75-86.

Robinson, B.H., Leblanc, M., Petit, D., Brooks, R.R., Kirkman, J.H., Gregg, P.E.H., 1998. "The potential of *Thlaspi caerulescens* for phytoremediation of contaminated soils". Plant and Soil, 203: 47-56.

Robinson, B.H., Brooks, R.R., Clothier, B.E., 1999. "Soil amendments affecting nickel and cobalt uptake by *Berkheya codii*: potential use for phytomining and phytoremediation". Annals of Botany, 84: 689–694.

Robinson, B., Bolan, N., Mahimairaja, S., Clothier, B., 2006. "Solubility, Mobility and Bioaccumulation of trace elements: abiotic processes in the rhizosphere". En: Prasat, M.N.V., Sajwan, K.S., Naidu, R., (eds.),

"Trace elements in the environment, Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation".CRC Press. Taylor & Francis Group. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300. Boca Raton, FL 33487-2742.

Römheld, V. & Marschner, H., 1986. "Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron". Journal of Plant Nutrition, 9: 695-713.

Römkens, P.F., Bouwman, L.A., Boon, G.T., 1999. "Effect of plant growth on copper solubility and speciation in soil solution samples". Environmental Pollution, 106: 315-321.

Römkens, P., Bouwman, L., Japenga, J., Draaisma, C., 2002. "Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils". Environmental Pollution, 116: 109–121.

Ronchel, M.C. & Ramos, J.L., 2001. "Dual system to reinforce biological containment of recombinant bacteria designed for rhizoremediation". Applied and Environmental Microbiology, 67(6): 2649–2656.

Roosens, N., Verbruggen, N., Meerts, P., Ximenez-Embun, P., Smith, J.A.C., 2003. "Natural variation in cadmium tolerance and its relationship to metal hyperaccumulation for seven populations of *Thlaspi caerulescens* from western Europe". Plant, Cell and Environment, 26: 1657-1672.

Ross, S.M., 1994. "Sources and forms of potentially toxic metals in soil-plant systems" En: Ross, S.M. (ed.), "Toxic metals in soil-plant systems", pp. 3-25. John Wiley & Sons; Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore.

Rotkittikhun, P., Chaiyarat, R., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Baker, AJM., 2007. "Growth and lead accumulation by the grasses *Vetiveria zizanioides* and *Thysanolaena maxima* in lead-contaminated soil amended with pig manure and fertilizer: a glasshouse study". Chemosphere, 66: 45–53.

Rubio, C., González Weller, D., Martín-Izquierdo, R.E., Revert, C., Rodríguez, I., Hardisson A., 2007. "El zinc: oligoelemento esencial". Nutrición Hospitalaria, 22(1): 101-107

Rugh, C.L., Wilde, D., Stack, N.M., Thompson, D.M., Summers, A.O., Meagher, R.B., 1996. "Mercuric ion reduction and resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial merA gene". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 93: 3182–3187.

Rugh, C.L., Gragson, G.M., Meagher, R.B., Merkle, S.A., 1998. "Toxic mercury reduction and remediation using transgenic plants with a modified bacterial gene". HortScience, 33: 618–621.

Rugh, C.L., Bizily, S.P., Meagher, R.B., 2000. "Phytoremediation of environmental mercury pollution". En: Raskin, I., Ensley, B.D., (eds.), "Phytoremediation of toxic metals using plants to clean up the environment", pp. 151– 71. New York Wiley; 2000.

Ryan, J.A. & Chaney, R.L., 1997. "Issues of risk assessment and its utility in development of soil standards: the 503 methodology an example". En: Prost,,R. (ed.), "Contaminated soils". INRA 85. INRA, Paris.

Salt, D.E., Prince, R.C., Pickering, I.J., 1995. "Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard". Plant Physiology, 109: 1427–1433.

Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, N., Dushenkov, V., Ensley, B.D., Chet, I., Raskin, I., 1995. "Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants". Biotechnology, 13: 468-474.

Salt, DE., Smith, RD., Raskin, I., 1998. "Phytoremediation". Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49: 643-668.

Salt, D.E., Kato, N., Krämer, U., Smith, R.D., Raskin, I., 2000. "The role of root exudates in nickel hyperaccumulation and tolerance in accumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*". En: Terry, N. & Bañuelos, G. (eds.), "Phytoremediation of Contaminated Soil and Water", pp. 189–200. CRC. Press, Boca Raton.

Sas-Nowosielska, A., Kucharski, R., Malkowski, E., Pogrzeba, M., Kuperberg, J.M., Krynski, K., 2004. "Phytoextraction crop disposal – an unsolved problem". Environmental Pollution, 128: 373–379.

Saxena, P.K., Raj, S.K., Dan, T., Perras, M.R., Vettakkorumakankav, NN., 1999. "Phytoremediation of heavy metal contaminated and polluted soils". En: Prasad, MNV & Hagemayr, J. (eds.), "Heavy Metal Stress in Plants, From Molecules to Ecosystems". pp 305-329, Springer Verlag, Berlin.

Scheffer, F. & Schachtschabel, P., 1989. “Lehrbuch der Bodenkunde”. Enke-Verlag, Stuttgart.

Schmidt, U., 2003. **“**Enhancing phytoextraction: The effect of chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation, and leaching of heavy metals”. Journal of Environmental Quality, 32: 1939-1954.

Schnoor, J.L., Licht, L.L., McCutcheon, S.C., Wolfe, N.L., Carreira, L.H., 1995. "Phytoremediation of organic and nutrient contaminants". Environmental Science and Technology, 29: 318-323.

Schnoor, J., 1997a. “Phytoremediation: Groundwater remediation technologies analysis”. Center Technology Evaluation Report TE-98-01, 37. Concurrent technologies corp., Pittsburgh, Pennsylvania.

Schnoor, J.L., 1997b. “Phytoremediation”. Technology Evaluation Report to the Ground-Water Remediation Technologies Center. August 2000 at: http://www.gwrtac.org/pdf/phyto_e.pdf

Schnoor, J.L. 2000. “Phytostabilization of metals using hybrid poplar trees”. En: Raskin, I. & Ensley, B.D. (eds.), “Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment”, pp. 133–150. John Wiley & Sons, New York.

Schnoor, J.L., 2002. “Phytoremediation of soil and groundwater - Ground Water Remediation Technologies Analysis”. Center Technology Evaluation Report TE-02-01. Concurrent technologies corp., Pittsburgh, Pennsylvania.

Schremmer, D., Schmidt, U., Kaupenjohann, M., 1999. “Effect of acidification by fertiliser application on heavy metal mobility: Uptake by willow and leaching”. En: Wenzel, W.W., Adriano, D.C., Alloway, B., Doner, H.E., Keller, C., Lepp, N.W., Mench, M., Naidu, R., Pierzynski, G.M. (eds.), “Proc. 5th Int. Conf. on the Geochemistry of Trace Elements”, pp. 524–527. (ICOBTE), Vienna. 11–15 July 1999. Int. Soc. for Trace Element. Res., Vienna.

Schulman, R.H., Salt, D.E., Raskin, I., 1999. “Isolation and partial characterization of a lead accumulating *Brassica juncea* mutant”. Theoretical and Applied Genetics, 99: 398–404.

Schwartz, C., Echevarria, G.J., Morel, L., 2003. “Phytoextraction of cadmium with *Thlaspi caerulescens*”. Plant and Soil, 249: 27-35.

Scott, A.J. et al., 2001. “Role of soil microorganisms in uptake of heavy metals by hyperaccumulators”. En: Evand, L. et al. (eds.), “Proc. 6th Int. Conf. Biogeochem. Trace Elements”, p. 288. Guelph, 2001.

Shann, J.R., 1995. “The role of plants and plant/microbial systems in the reduction of exposure”. Environmental Health Perspectives, 103(5): 13-15.

Shanker, A.K., Djanaguiraman, M., Pathmanabhan, G., Sudhagar, R., Avudainayagam, S., 2003. “Uptake and phytoaccumulation of chromium by selected tree species”. Proceedings of the International Conference on Water and Environment held in Bhopal, M.P. India, 2003.

Shen, Z.G., Li, X.D., Wang, C.C., Chen, H.M., Chua, H., 2002. “Lead phytoextraction from contaminated soils with high biomass plant species”. Journal of Environmental Quality, 31: 1893–1900.

Shetty, K.G., Hetrick, B.A.D., Figge, D.A.H., Schwab, A.P., 1994. “Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy metal contaminated mine spoil”. Environmental Pollution, 86(2): 181-188.

Shtangeeva, I., Heydorn, K., Lissitskaya, T., 2001. “The potential effect of microbial activity on the uptake of elements studied by exploratory multivariate analysis of data obtained by INAA”. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 249(2): 375–380.

Shtangeeva, I., 2006. “Phytoremediation of trace element contaminated soil with cereal crops: role of fertilizers and bacteria on bioavailavility”. En: Prasat, M.N.V., Sajwan, K.S., Naidu, R., (eds.) “Trace elements in the environment, Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation”.CRC Press. Taylor & Francis Group. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300. Boca Raton, FL 33487-2742.

Shu, W.S., Xia, H.P., Zhang, Z.Q., Lan, C., Wong, M., 2002. “Use of vetiver and three other grasses for revegetation of Pb/Zn mine tailings: Field experiment”. International Journal of Phytoremediation, 4(1): 47-57.

Shu, W.S., Ye, Z.H., Lan, C.Y., Zhang, Z.Q., Wong, M.H., 2002. "Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*". Environmental Pollution, 120(2): 445-453.

Shuman LM., 1991. "Chemical forms of micronutrients in soils". En: Luxmoore, RJ. (ed.), "Micronutrients in agriculture". Madison, WI: SSSA Inc; 1991. p. 114–44.

Sirguey, C., Schwartz, C., Morel. J.L., 2006. "Response of *Thlaspi caerulescens* to Nitrogen, Phosphorus and Sulfur fertilisation". International Journal of Phytoremediation, 8: 149–161.

Smith, S.E. & Read, D.J., 1997. "Mycorrhizal symbiosis", 2nd edn. New York: Academic Press.

Smith, E., Naidu, R., Alston, A.M., 2002. "Chemistry of arsenic in soils: II. Effect of phosphorus, sodium and calcium on arsenic sorption". Journal of Environmental Quality, 31: 557–563.

Sposito, G., 1984. "The surface chemistry of soils". Oxford University Press. New York.

Sposito, G., 1989. "The chemistry of soils". Oxford University Press. New York.

Srivastava, S., Prakash, S., Srivastava, M.M., 1999. "Studies on mobilization of chromium with reference to its plant availability – Role of organic acids". BioMetals, 12: 201–207.

Stanley, J., Buxton, R., Alspach, P., Morgan, C., Martindale, D., Sarosa, W., 2000. "Developing optimum strategies for rehabilitating overburden stockpiles at the Grasberg mine, Irian, Jaya, Indonesia". En: Rochefort, L.; Daigle, J.-Y. (eds.), "Sustaining our wetlands : proceedings of the 11th International Peat Congress, Quebec, Canada", pp. 806-814. Quebec, International Peat Society.

Stanley, J., 2002. "Rehabilitation of mines and other disturbed sites". At: http://www.hortresearch.co.nz/products/bioremediation/rehab

Stomp, A.M., Han, K.H., Wilbert, S., Gordon, M.P., 1993. "Genetic improvement of tree species for remediation of hazardous wastes". In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant, 29P: 227-232.

Strand, S.E., Newman, L., Ruszaj, M., Wilmoth, J., Shurtleff, B., Brandt, M., Choe, N., Ekuan, G., Duffy, J., Massman, J.W., Heilman, P.E., Gordon, M.P., 1995. "Removal of trichloroethylene fron aquifers using trees". En: Vidic, R.D. & Pohland, F.G. (eds.), "Innovative technologies for site remediation and Hazardous waste management". Proceedings of the national conference. Environmental engineering division, American Society of Civil Engineers, New York, held in, pp. 605-612. Pittsburgh, Pennsylvania, July 26.

Stumm, W. & Morgan, J.J. 1981. "Aquatic Chemistry". Wiley, New York.

Sun, B., Zhao, F.J., Lombi, E., McGrath, S.P., 2001. "Leaching of heavy metals from contaminated soil using EDTA". Environmental Pollution, 113: 111–120.

Suter, G.W., Luxmoore, R.J., Smith, E.D., 1993. "Compacted soil barriers at abandoned landfill sites are likely to fail in the long term". Journal of Environmental Quality, 22: 217-226.

Swiss Federal Legislation, 1996. "Technical Ordinance on Waste (TOW)". RS 814.600, Bern, Switzerland.

Synkowski, E.C.C., 2004. "Breeding considerations for improving cadmium and Zinc hyperaccumulation in two *Thlaspi caerulescens* populations". Thesis submitted to the Faculty of the Graduate School of the University of Maryland, College Park in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science 2004.

Talke, I.N., Hanikenne, M., Krämer, U., 2006. "Zinc-dependent global transcriptional control, transcriptional deregulation, and higher gene copy number for genes in metal homeostasis of the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*". Plant Physiology, 142: 148–167.

Talukdar, S., 2007. "Functional characterisation of three zinc transporters in *Thlaspi caerulescens*". PhD thesis Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2007.

Terry, N., Carlson, C., Raab, T.K., Zayed, A.M., 1992. "Rates of selenium volatilization among crop species". Journal of Environmental Quality, 21: 341-344.

Terry, N. & Zayed, AM., 1994. "Selenium volatilization by plants". En: Frankenberger Jr, WT., Benson, S., (eds.), "Selenium in the environment", pp 343-367. Dekker, New York.

Terry, N., Zayed, A., Pilon-Smits, E., Hansen, D. 1995. “Can plants solve the selenium problem?”. En: Proceedings of the 14th annual symposium, Current topics in plant biochemistry, physiology and molecular biology, “Will plants have a role in bioremediation?”. University of Missouri, Columbia, April 19-22, pp. 63-64.

Thangavel, P. & Subbhuraam, C.V., 2004. “Phytoextraction: role of hyperaccumulators in metal contaminated soils - Proceedings of the Indian National Science Academy. Part B, Reviews and Tracts”. Biological Sciences, 70(1): 109-130.

Thomas, P. & J. Buck., 1999. “Agronomic Management for Phytoremediation”. En: Leeson, A. & Alleman B.C. (eds.), “Phytoremediation and Innovative Strategies for Specialized Remedial Applications”. Battelle Press.
Tiller, K.G., 1989. "Heavy metals in soils and their environmental significance". Advances in soil Science, 9: 113-141.

Todd, J. & Josephson, B., 1996. “The design of living technologies for waste treatment”. Ecological Engineering, 6(1-3): 109-136.

Tordoff, G.M., Baker, A.J.M., Willis, A.J., 2000. “Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes”. Chemosphere, 41: 219–228.

Trampczynska, A., Gawronski, S.W., Kutrys, S., 2001. “*Canna x generalis* as a plant for phytoextraction of heavy metals in urbanized area”. Zeszyty Naukowe Politechniki Slaskiej, 45: 71-74.

Trapp, S., Karlson, U., 2001. “Aspects of phytoremediation of organic pollutants”. Journal of Soils and Sediments, 1: 1-7.

Tremel, A., 1996. “Transfert du thallium du sol vers la plante”. PhD Thesis, Univ. Nancy, Nancy.

Tremel, A., Mench, M., 1997. “Le thallium dans les sols et les végétaux supérieures, II. Le thallium dans les végétaux supérieures”. Agronomie, 17: 261–269.

Tremel, A., Masson, P., Sterckeman, T., Baize, D., Mench, M., 1997. “Thallium in French agrosystems, I. Thallium content in arable soils”. Environmental Pollution, 95: 293–302.

Trotta, A., Falaschi, P., Cornara, L., Minganti, V., Fusconi, A., Drava, G., Berta, G., 2006. “Arbuscular mycorrhizae increase the arsenic translocation factor in the As hyperaccumulating fern *Pteris vittata* L.”. Chemosphere, 65: 74–81.

Truong, P., Baker, D., Stone, R., 1996. “Vetiver grass for the stabilization and rehabilitation of contaminated lands”. Poster paper, Workshop on Research, “Development and Application of Vetiver Grass for Soil Erosion and Sediment Control in Queensland”. November 1996, Toowoomba, Queensland, Australia.

Truong, P., 2000. “Vetiver grass technique for mine tailings rehabilitation”. En: Proc. 1st Asia Pacific Conf. Ground Water Bioeng. Control Slope Stabilization, Malina, Philippines, 315, 1999

Tu, S., Ma, L., Luongo, T., 2004. “Root exudates and arsenic accumulation in arsenic hyperaccumulating *Pteris vittata* and non-hyperaccumulating *Nephrolepis exaltata*”. Plant and Soil, 258: 9–19.

Turnau, K., Jurkiewicz, A., Lingua, G., Barea, J.M., Gianinazzi-Pearson, V., 2006. “Role or arbuscular mycorrhiza and associated microorganisms in phytoremediation of heavy metal-polluted sites”. En: Prasat, M.N.V., Sajwan, K.S., Naidu, R., (eds.) “Trace elements in the environment, Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation”.CRC Press. Taylor & Francis Group. 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300. Boca Raton, FL 33487-2742.

Turpeinen, R., Salminen, J., Kairesalo, T., 2000. “Mobility and bioavailability of lead in contaminated boreal forest soil”. Environmental Science & Technology, 34: 5152-5156.

Tüzen, M., 2003. “Determination of trace metals in the River Yesilirmak sediments in Tokat, Turkey using sequential extraction procedure”. Microchemical Journal, 74: 105–110.

Van-Camp. L., Bujarrabal, B., Gentile, A-R., Jones, R.J.A., Montanarella, L., Olazabal, C., Selvaradjou, S-K., 2004. “Reports of the Technical Working Groups Established under the Thematic Strategy for Soil Protection”. EUR 21319 EN/4, 872 pp. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

Vandecasteele, B., De Vos B., Tack, F.M.G., 2002. "Cadmium and zinc uptake by volunteer willow species and elder rooting in polluted dredged sediment disposal sites". Science of the Total Environment, 299: 191–205.

Van de Mortel, J.E., Villanueva, L.A., Schat, H., Kwekkebopom, J., Coughlan, S., Moerland, P.D., van Themaat, E.V.L., Koornneef, M., Aarts, MGM., 2006. "Large expression differences in genes for iron and zinc homeostasis, stress response, and lignin biosynthesis distinguish roots of *Arabidopsis thaliana* and the related metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*". Plant Physiology, 142: 1127–1147.

Vandenhove, H., Bousher, A., Jensen, P.H., Jackson, D., Lambers, B., Zeevaert, T., 2000. "Investigation of a possible basis for a common approach with regard to the restoration of areas affected by lasting radiation exposure as a result of past or old practice or work activity". CARE Final Report Prepared by European Commission DG XI Environment, Nuclear Safety and Civil Protection under contract 96-ET-006.

Van de Vivere, H., 2000. "Revegetation of industrial sites" En: Vandehove, H. (ed.), "Topical days on phytomanagement of contaminated environments", Mol, Belgium, Report SCK-CEN BLG-844.

Vangronsveld, J., Van Assche, F., Clijsters, H., 1991. "Reclamation of a ´desert like' site in the north east of belgium: evolution of the metal pollution and experiments in situ". En: Farmer, J.G. (ed.), "Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environment", pp. 58-61. CEP Consultants, Edinburgh, UK.

Vangronsveld, J., Van Assche,,F., Sterckx, J., Clijsters, H., 1993. "Rehabilitation studies on an old non-ferrous waste dumping ground: Effects of metal immobilization and revegetation". En: Allen, R.J. & Nriagu, J.O. (eds.), "Proc. Int. Conf. Heavy Metals in the Environment", pp. 563–566. CEP Consultants, Edinburgh, UK (1993).

Vangronsveld, J., Cunningham, S.D., 1998. "Metal-Contaminated Soils: In situ Inactivation and Phytorestoration". R.G. Landes Company, Georgetown, Texas.

Van Huysen, T., Abdel-Ghany, S., Hale, K.L., LeDuc, D., Terry, N., Pilon-Smits, E.A.H., 2003. "Overexpression of cystathionine-gamma-synthase enhances selenium volatilization in *Brassica juncea*". Planta, 218: 71-78.

Van Huysen, T., Terry, N., Pilon-Smits, E.A.H., 2004. "Exploring the selenium phytoremediation potential of transgenic Indian mustard overexpressing ATP sulfurylase or cystathionine-synthase". International Journal of Phytoremediation, 6: 111-118.

Verloo, M. & Willaert, G. 1990. "Direct and indirect effects of fertilisation practices on heavy metals in plants and soils". En: Merckx, R., Vereecken, H., Vlassak, K. (eds.), "Fertilisation and the environment". Leuven University, Press Belgium pp 79-87.

Verret, F., Gravot, A., Auroy, P., Leonhardt, N., David, P., Nussaume, L., Vavasseur, A., Richaud, P., 2004. "Overexpression of AtHMA4 enhances root-to-shoot translocation of zinc and cadmium and plant metal tolerance". FEBS Letters, 576: 306–312.

Vogel-Mikuš, K., Pongrac, P., Kump, P., Nečemer, M., Regvar, M.,2006. "Colonisation of a Zn, Cd and Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox Wulfen* with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake". Environmental Pollution, 139(2): 362-371.

Walker, D.J., Clemente, R., Bernal, M.P., 2004. "Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste". Chemosphere, 57: 215–224.

Wang, A.S., Angle, J.S., Chaney, R.L., Delorme, T.A., Reeves, R.D., 2006. "Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*". Plant and Soil, 281: 325-33.

Wasay, S.A., Barrington, S.F., Tokunaga, S., 1998. "Remediation of soils polluted by heavy metals using salts of organic acids and chelating *agents".* Environmental Technology, 19: 369–379.

Webber, J., 1981. "Trace metals in agriculture". En: Lepp, NW. (ed.), "Effect of heavy metal pollution on plants: Metals in the environment, vol. II", pp. 159–184. London and New Jersey: Applied Science Publishers.

Weber, M., Harada, E., Vess, C., Roepenack-Lahaye, E. V., Clemens, S., 2004. "Comparative microarray analysis of *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis halleri* roots identifies nicotianamine synthase, a ZIP transporter and other genes as potential metal hyperaccumulation factors". Plant Journal, 37: 269–281.

Wenzel, W.W., Unterbrunner, R., Sommer, P., Pasqualina, S., 2003a. "Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments". Plant and Soil, 249: 83–96.

Wenzel, W.W., Bunkowski, M., Puschenreiter, M., Horak, O., 2003b. "Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil". Environmental Pollution, 123(1): 131-138.

Whitfield, L., Richards, A.J., Rimmer, D.L., 2003. "Effects of mycorrhizal colonization on *Thymus polytrichus* from heavy metal-contaminated sites in north England". Mycorrhiza, 14: 47–54.

Whiting, S.N., de Souza, M.P., Terry, N., 2001. "Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*". Environmental Science & Technology, 35: 3144–3150.

Wielinga, B., Lucy, J.K., Moore, J.N., Seastone, O.F., Gannon, J.E., 1999. **"**Microbiological and geochemical characterization of fluvially deposited sulfidic mine tailings". Applied and Environmental Microbiology, Vol. 65, No. 4: 1548-1555.

Wolfe, A.K. & Bjornstad, D.J. 2002. "Why would anyone object? An exploration of soil aspects of phytoremediation acceptability". Critical Reviews in Plant Sciences, 21, 429–438.

Wolverton, B.C & Wolverton, J.D., 2001. "Growing clean water, nature´s solution to water pollution". Wes Publisher, Picayune, Mississippi.

Wong, M.H., 2003. "Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils". Chemosphere, 50: 775–780.

Wood, B.W., Reilly, C.C., Nyczepir, A.P., 2004. "Mouse-ear of pecan: A nickel Deficiency". HortScience, 39: 1238-1242.

Wood, B.W., Chaney, R., Crawford, M., 2006. "Correcting micronutrient deficiency using metal hyperaccumulators: *Alyssum* biomass as a natural product for nickel deficiency correction". Hortscience, 41(5): 1231-1234.

Wu, L., 1990. "Colonization and establishment of plants in contaminated environments". En: Shaw, A.J., (ed.), "Heavy Metal Tolerance in Plants, Evolutionary Aspects", pp. 269–284. CRC Press, Boca Raton, FL (1990).

Wu, L.H., Luo, Y.M., Xing, X.R., Christie, P., 2004. "EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk". Agriculture, Ecosystems & Environment, 102: 307–318.

Wu, S.C., Cheung, K.C., Luo, Y.M., Wong, M.H., 2006a. "Effects of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on metal uptake by *Brassica juncea*". Environmental Pollution, 140: 124-135.

Wu, C.H., Wood, T.K., Mulchandani, A., Chen, W., 2006b. "Engineering plant-microbe symbiosis for rhizoremediation of heavy metals" Applied and Environmental Microbiology, 72(2): 1129–1134.

Xia, H.P. & Shu, W.S., 2001. "Resistance to and uptake of heavy metals by *Vetiveria zizanioides* and *Paspalum notatum* form lead/zinc mine tailings". Acta Ecologica Sinica, 21(7): 1121-1129.

Xunta de Galicia, 1992. "Atlas geoquímico de Galicia". Consellería de Industria e Comercio, Dirección Xeral de Industria, D.L.

Xunta de Galicia, 1995. "Plan de xestión de residuos perigosos e solos contaminados de Galicia". Consellería de Industria e Comercio.

Xunta de Galicia, 1997. "Primeira fase do programa operativo de solos contaminados de Galicia (POSC)". Consellería de Medio Ambiente.

Xunta de Galicia, 1998. "Segunda fase do programa operativo de solos contaminados de Galicia (POSC)". Consellería de Medio Ambiente.

Xunta de Galicia, 2003. “Plan de xestión de residuos industriais e solos contaminados de Galicia”. Consellería de Medio Ambiente.

Yang, X.E., Long, X.X., Ni, W.Z., 2002. “Physiological and molecular mechanisms of heavy metal uptake by hyperaccumulating plants”. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 8: 8–15.

Ye, Z.H., Wong, J.W.C., Wong, M.H., Lan, C.Y., Baker, A.J.M., 1999. “Lime and pig manure as ameliorants for the revegetation on lead/zinc mine tailings: a greenhouse study”. Bioresource Technology, 69: 35–45.

Zhang, L., Angle, J., Chaney, R.L., 2007. “Do high-nickel leaves shed by the nickel hyperaccumulator *Alyssum murale* inhibit seed germination of competing plants?”. New Phytologist, 173: 509–516.

Zhao, F.J., Hamon, R.E., McLaughlin, M.J., 2001. “Root exudates of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* do not enhance metal mobilisation”. New Phytologist, 151: 613–620.

Zhao, F.J., Dunham, S.J., McGrath, S.P., 2002. “Arsenic hyperaccumulation by different fern species”. New Phytologist, 156: 27-31.

Zhao, F.J., Lombi, E., McGrath, S.P., 2003. “Assessing the potential for zinc and cadmium phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*”. Plant and Soil, 249: 37-43.

Zhao, Z-Q., Zhu, Y-G., Li, H-Y., Smith, S.E., Smith, F.A., 2004. “Effects of forms and rates of potassium fertilizers on cadmium uptake by two cultivars of spring wheat (*Triticum aestivum* L.)”. Environment International, 29(7): 973-978.

Zhuang, X., Chen, J., Shim, H., Bai, Z., 2007. “New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation”. Environment International, 33: 406–413.

CAPÍTULO 2

ESTUDIO FITOGEOQUÍMICO DE LA REGIÓN DE TRAS-OS-MONTES (NE PORTUGAL). INFLUENCIA DEL MATERIAL ORIGINAL EN LA ACUMULACIÓN DE METALES EN PLANTAS

Resumen:
Las técnicas de fitocorrección son reconocidas actualmente como alternativas prometedoras a las técnicas clásicas de limpieza de suelos con una contaminación difusa o moderada en metales pesados. Sin embargo, relativamente pocas especies de plantas han sido estudiadas para propósitos de fitocorrección. El avance de estas técnicas todavía requiere de la realización de estudios biogeoquímicos y de búsqueda de nuevas especies vegetales adecuadas. En este sentido, suelos naturalmente ricos en metales pesados como consecuencia de la composición química de las rocas de las cuales derivan, como pueden ser las áreas serpentiníticas, pueden funcionar como fuentes de plantas metalotolerantes con un potencial uso en aplicaciones de fitocorrección. En este trabajo se estudia la influencia del material de partida sobre el contenido, fraccionamiento y biodisponibilidad de metales pesados en suelos y su acumulación en plantas, englobando áreas ultramáficas y no ultramáficas en la región de Tras-Os-Montes (NE Portugal). Para ello se recogieron muestras de roca, suelos y plantas en seis localizaciones del área estudiada en base a su diferente litología (serpentinitas, peridotitas, granulitas, migmatitas y esquistos), analizando la composición química de las rocas, el contenido total, fraccionamiento químico y biodisponibilidad de Mn, Cr, Ni, Co, Cu, Zn y Pb en los suelos y la acumulación de estos metales en las raíces, tallos y hojas de las plantas. Los resultados muestran que las rocas de composición ultrabásica presentan las mayores concentraciones de Ni, Cr y Co, especialmente las que presentaban rasgos de serpentinización; por su parte el Cu, Zn y Mn se asociaron con las rocas de composición básica (granulitas) y el Pb con las rocas ácidas, especialmente con los esquistos. El contenido total de estos metales en el suelo, pero no su biodisponibilidad, reflejó de forma general el contenido metálico de los materiales originales. Nueve especies de plantas (representando 7 familias) fueron muestreadas, incluyendo a efectos comparativos a la hiperacumuladora de Ni *Alyssum serpyllifolium* subsp. *lusitanicum*. Los patrones de absorción y acumulación de los metales en planta no sólo variaron en función de la especie vegetal, sino también de las condiciones edáficas de su procedencia. Generalmente la mayor acumulación de metales, translocación ($[Metal]_{Hoja}$:$[Metal]_{Raíz}$) y bioacumulación ($[Metal]_{Hoja}$:$[Metal]_{Suelo}$) fue encontrada en cuatro de las especies no hiperacumuladoras de metales: *Cistus ladanifer*, *Lavandula stoechas*, *Plantago subulata* subsp. *radicata y Thymus mastichina*. Mientras que *P. subulata* es de menor interés dada su escasa biomasa, las otras tres especies podrían llegar a tener un uso potencial en tecnologías de fitocorrección, particularmente en la fitoextracción de Cr, Mn y Zn en suelos contaminados. En adición, estas tres especies poseen un aprovechamiento económico en la elaboración de aceites y fragancias, lo que incrementa su interés.

1. INTRODUCCIÓN

La geoquímica de las rocas ejerce el control primario en el contenido y distribución de los metales pesados en la mayor parte de la superficie terrestre, con notables excepciones en las áreas contaminadas por la actividad humana (industrial, minera o agrícola). Durante la alteración de las rocas, los metales son transferidos a los suelos, pudiéndose acumular localmente en algunas zonas. En este sentido, diferentes minerales fácilmente alterables como olivino, hornblenda o augita, frecuentes en rocas ígneas y metamórficas, transfieren al suelo cantidades importantes de Mn, Co, Ni, Cu y Zn; la alteración de rocas ultrabásicas, como serpentinitas, libera grandes cantidades de Cr, Ni y, en menor medida, Co (Ross, 1994). Los metales liberados por las rocas se distribuyen en el suelo entre fracciones con distinto grado de labilidad: cambiables, ligados a materia orgánica, a óxidos de hierro y manganeso y a estructuras minerales. El equilibrio dinámico que se establece entre estas fracciones determina su movilidad y biodisponibilidad, siendo el pH, el Eh y la cantidad y tipo de coloides del suelo (materia orgánica, arcillas y óxidos) los factores edáficos más importantes en su control (Korcak & Fanning, 1985; Miner et al., 1997; Weng et al., 2001). La biodisponibilidad de metales en el suelo, y particularmente su reposición a partir de las fracciones menos biodisponibles, determina en gran medida la absorción de metales por las plantas (McGrath et al., 1997). Adicionalmente, la planta puede modificar las condiciones de la rizosfera a través de procesos como la producción de exudados radiculares o la alteración del pH (Morel, 1997; Adriano et al, 2001; Adamo et al., 2002; Wenzel et al., 2003), por lo que la vegetación también juega un papel activo importante en el ciclado global de los metales.

La colonización vegetal de los suelos ricos en metales depende de la capacidad de las plantas para desarrollar mecanismos de tolerancia (Ernst, 1990). Muchas especies toleran las elevadas concentraciones de metales en el suelo porque restringen su absorción y/o translocación hacia las hojas (estrategia de exclusión); sin embargo, otras los absorben y acumulan activamente en su biomasa aérea (estrategia acumuladora), lo que requiere una fisiología altamente especializada (Baker y Walker, 1990). Se han reconocido diferentes grados de acumulación metálica, desde pequeñas elevaciones sobre el nivel de fondo hasta respuestas extremas, en las que el metal llega a exceder el 1% de la materia seca de la planta. Brooks et al. (1977) fueron los primeros en utilizar el término “planta hiperacumuladora” para referirse a plantas capaces de acumular >1000 mg Ni kg^{-1} de materia seca. El término se redefinió posteriormente para designar plantas que acumulaban >10000 mg kg^{-1} de Mn y Zn, >1000 mg kg^{-1} de Co, Cu, Ni y Pb y >100 mg kg^{-1} de Cd (Baker et al., 2000).

Chaney (1983) sugirió la idea de utilizar las plantas hiperacumuladoras para la limpieza de suelos contaminados con metales, a través de su cultivo y posterior siega (fitoextracción). Al contrario que los contaminantes orgánicos, los metales pesados acumulados en los suelos no son biodegradables y generalmente se encuentran en formas poco móviles, por lo que su tiempo de residencia en el suelo se prolonga durante miles de años (Adriano, 2001; Vassilev et

al., 2004). Actualmente se reconoce que las técnicas de fitocorrección, basadas en el uso de plantas (fitorremediacion), son alternativas prometedoras a las técnicas clásicas de descontaminación para suelos con contaminación difusa o moderada (McGrath et al., 2002; McIntyre, 2003; Vassilev et al., 2004).

Hasta ahora se han identificado relativamente pocas especies hiperacumuladoras (representan menos del 0.2% de las angiospermas) (Cunningham et al., 1995; Baker et al., 2000). Básicamente, la capacidad fitoextractora de una planta depende de su capacidad de absorber, translocar y secuestrar el metal de interés en su parte aérea cosechable, así como de la cantidad de biomasa producida. Dado que las plantas hiperacumuladoras son relativamente raras y muchas de ellas producen una escasa biomasa y poseen una baja tasa de crecimiento (Baker et al., 2000), su uso efectivo en los procesos de fitoextracción es limitado. Para superar esta limitación se ha propuesto el uso de plantas tolerantes con menor contenido metálico en su biomasa aérea, pero con mayor productividad (Barceló et al. 2001; Bech et al., 2002). Por ejemplo, se ha demostrado que especies arbóreas de crecimiento rápido (*Salix*, *Populus*) y cultivos de alta productividad (*Brassica*, *Helianthus*) pueden ser utilizados para la fitoextracción de metales, ya que su elevada biomasa puede compensar su menor acumulación metálica (Greger & Landberg, 1999, Robinson et al., 2000; Pulford & Watson, 2003). Adicionalmente, se podrían utilizar plantas tolerantes no hiperacumuladoras en combinación con enmiendas del suelo con el objetivo de rebajar la biodisponibilidad y exposición de los metales (fitoestabilización) (Vangronsveld & Cunningham, 1998; Berti & Cunninham, 2000). A pesar de la gran dedicación al tema, todavía son pocas las plantas estudiadas para su uso en fitocorrección, y siguen siendo necesarios nuevos estudios geobotánicos y búsquedas adicionales de especies con valor potencial en este tipo de técnicas de fitocorrección.

La gran mayoría de las especies hiperacumuladoras pertenecen a comunidades vegetales características de suelos naturalmente ricos en metales como consecuencia de la composición química del material original. En este sentido, gran parte de ellas pertenecen a floras de áreas ultrabásicas (serpentinitas), y acumulan generalmente Ni (Brooks, 1998). En la Península Ibérica existen tres áreas serpentiníticas (en A Coruña, Tras-Os Montes y en Málaga) caracterizadas por poseer unos contenidos anormalmente elevados de oligoelementos como Ni, Cr, Cu y Co (Brooks, 1987). Estos contenidos metálicos superan en muchos casos los valores considerados como críticos por la CEC (Commission of the European Communities) (1986), y producen fitotoxicidad en la mayoría de plantas “normales”. Son áreas, por tanto, de especial interés en la búsqueda de nuevas especies adaptadas a altos niveles de metales en el suelo y con una posible capacidad de acumulación de metales en sus tejidos (Brooks, 1987).

Los objetivos del presente trabajo consisten en caracterizar químicamente el diverso material geológico existente en el área de Tras-Os-Montes y determinar el contenido en

metales (Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn) y sus formas químicas en los suelos desarrollados sobre él. Los resultados sobre los suelos se pretenden relacionar con la acumulación de los metales pesados (Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn) en las especies vegetales más representativas de la comunidad vegetal existente en la zona, mientras que su distribución en los distintos tejidos (raíz/tallo/hojas) definirán en cada caso la estrategia de tolerancia frente a los diferentes metales (Baker, 2001). Con ello, se identificarán las especies o poblaciones vegetales tolerantes capaces de acumular metales pesados y se evaluará su posible uso potencial en técnicas de fitoextracción de suelos contaminados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La zona de Tras-Os-Montes se sitúa en una de las áreas geológicamente más complejas del noroeste peninsular. La geología de esta región está dominada por el macizo máfico/ultramáfico polimetamórfico de Bragança, con gabros, serpentinitas, eclogitas, anfibolitas y granulitas, y por una compleja imbricación de mantos de cabalgamiento. Envolvente al macizo aparece una secuencia para-autóctona, con predominio de esquistos y rocas afines, del Silúrico y del Devónico y la presencia de cuarcitas, anfibolitas, migmatitas y vulcanitas metamórficas (Iglesias et al., 1983, Ribeiro et al., 1990, Pereira, 1997, Meirelles, 2000) (Figura 1).

La vegetación de la zona y su ecología, fundamentalmente en el área serpentinítica, que representa una superficie de unos 80 km^2 entre las latitudes 45º25´ y 41º54´ N, ha sido extensivamente estudiada. Entre las especies endémicas encontradas ha sido identificada una planta hiperacumunadora de Ni, *Alyssum serpyllifolium* Desf subsp. *lusitanicum* Dudley y P.Silva (Brooks, 1987, Menezes de Sequeiro & Pinto da Silva, 1992).

El clima de la región es Mediterráneo, variando desde Mediterráneo húmedo hasta variantes más áridas (Menezes de Sequeira & Pinto da Silva, 1992); en Bragança la temperatura media anual es de 12.4 ºC y la precipitación media anual es de 720 mm (Carballeira et al., 1983).

Toma de muestras

Utilizando el material geológico como factor de variación se localizaron seis puntos de muestreo en un transecto de 33 km entre los pueblos de Samil y Vinhais, denominados a partir de ahora como S, UB, B, M, SC1 y SC2 (Figura 1). Las localizaciones S y UB se situaron en una zona formada fundamentalmente por rocas de naturaleza ultrabásica (principalmente

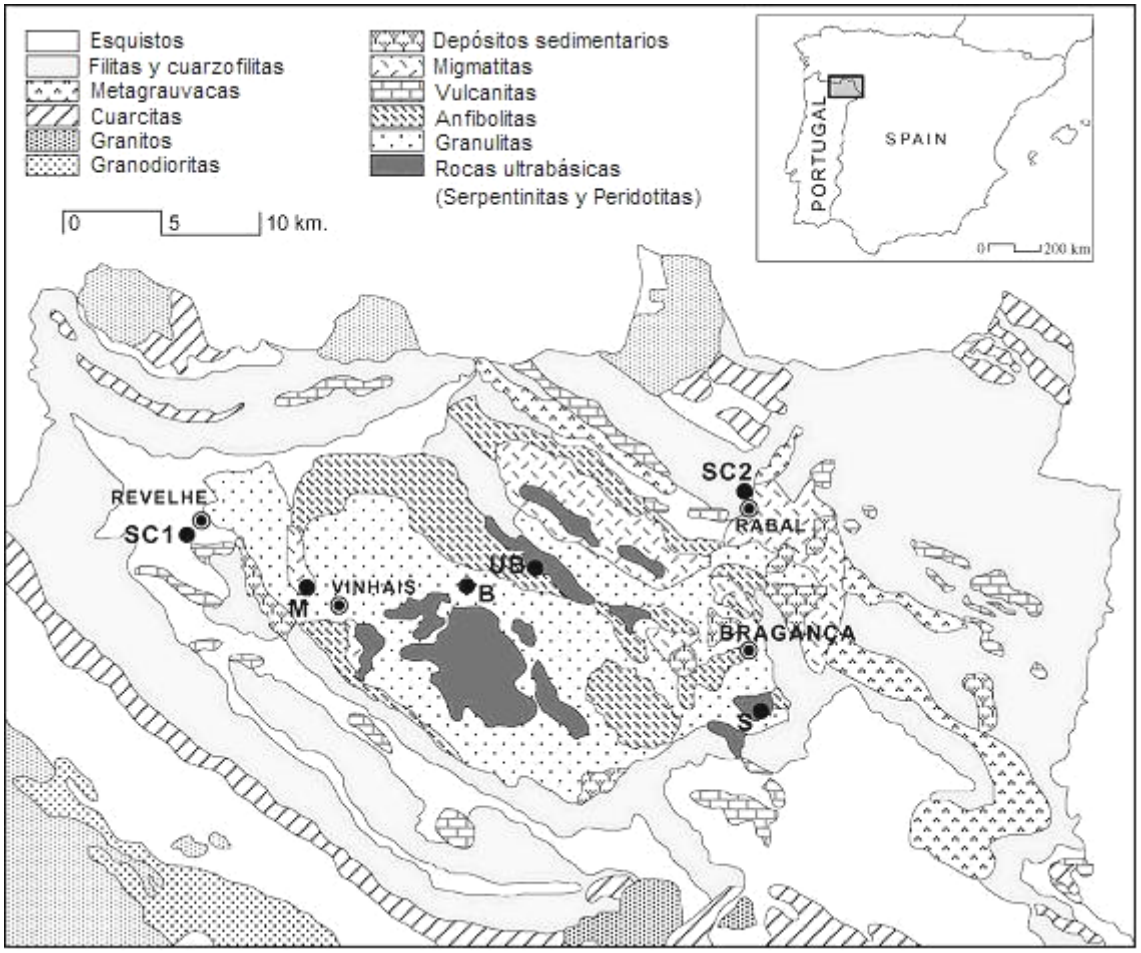

Figura 1.- Mapa geológico simplificado de la región de Tras Os Montes (NE de Portugal), en el que se muestra la localización de los lugares de estudio.

Tabla 1.- Descripción de los seis puntos de estudio en la región de Tras Os Montes (NE Portugal), incluyendo las especies de plantas recolectadas en cada uno de ellos (en orden alfabético).

Punto	Localidad	Especies de plantas recolectadas	Altitud (m)	coordenadas UTM
S	Samil	*Alyssum serpyllifolium, Cistus ladanifer, Cytisus multiflorus, Daphne gnidium, Genista Hystrix, Lavandula stoechas, Plantago subulata, Santolina semidentata, Thymus mastichina*	801	29T 0687274 6627907
UB	Bragança	*Alyssum serpyllifolium, Cistus ladanifer, Cytisus multiflorus, Lavandula stoechas, Thymus mastichina*	738	29T 0676541 4635067
B	Vila Verde	*Cistus ladanifer, Cytisus multiflorus, Daphne gnidium, Lavandula stoechas, Thymus mastichina*	704	29T 0672847 4634250
M	Vinhais	*Cistus ladanifer, Cytisus multiflorus, Daphne gnidium, Lavandula stoechas, Thymus mastichina*	754	29T 0664212 4633721
SC1	Revelhe	*Cistus ladanifer, Cytisus multiflorus, Lavandula stoechas, Thymus mastichina*	782	29T 0658718 4636800
SC2	Rabal	*Cistus ladanifer, Cytisus multiflorus, Lavandula stoechas, Thymus mastichina*	670	29T 0687210 4638890

peridotitas), fuertemente serpentinizadas en S (serpentinitas). En la localidad B existía un dominio de rocas básicas (anfibolitas y granulitas) y en las localizaciones M y SC (SC1, SC2), rocas de naturaleza ácida (migmatitas y esquistos, respectivamente). De acuerdo con la FAO (1998), los suelos dominantes fueron clasificados como Leptosoles húmicos en S, Leptosoles órtico-eútricos en UB y en B y Leptosoles órtico-dístricos en M, SC1 y SC2.

Los puntos de muestreo fueron situados, dentro de lo posible, en posiciones topográficas similares (altitud, pendiente, orientación) y buscando el máximo número de especies comunes en las asociaciones vegetales. En cada localización se recogieron muestras representativas del material geológico dominante, excepto en el punto UB, muestras del horizonte A (0-15 cm) y plantas representativas de la región (*Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae), *Cytisus multiflorus* (L´Hér) Sweet. (Fabaceae), *Daphne gnidium* L. (Thymelaeaceae), *Genista hystrix* Lange. var. *villosa* (Fabaceae), *Lavandula stoechas* L. (Lamiaceae), *Plantago subulata* L. subsp. *radicata* (Plantaginaceae), *Santolina semidentata* Hoffgg. y Lk. (Asteraceae) y *Thymus mastichina* L. (Lamiaceae)) durante dos campañas de muestreo (Julio de 2000 y Mayo de 2001). A efectos de comparación se recogieron también individuos de la conocida especie hiperacumuladora de Ni, endémica de los suelos ultramáficos de la zona (S y UB), *Alyssum serpyllifolium* Desf subsp. *lusitanicum* Dudley y P.Silva (Brassicaceae). En la tabla 1 se muestran las especies vegetales recolectadas en cada uno de los puntos y las variables utilizadas para definir la localización exacta en cada uno de ellos.

Análisis de suelos y plantas

En las muestras de roca se analizó el contenido total de Al, Fe, Si, Ca, Mg, Na, K, Mn, Cr, Ni, Co, Zn y Pb por espectrofotometría de absorción/emisión atómica de llama (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT) después de su fusión alcalina con metaborato de litio (Automatic Fluxer FX-200, LECO Co., ST Joseph, MI USA). Para la determinación de Pb fue necesario el uso de cámara de grafito (Perkin-Elmer 4110 ZL, Norwalk, CT).

Las muestras de suelo (de 3 a 10 réplicas en cada punto de muestreo) se secaron al aire y los análisis se realizaron en la fracción <2 mm. El pH se determinó en agua y en KCl 0.1 M (relación suelo:disolución de 1:2.5); el contenido de C y N fue determinado con un analizador LECO CHN-1000 (LECO Corp., St Joseph, MI). Los cationes de cambio se extrajeron con NH_4Cl 1N (Peech et al., 1947) y en el extracto se midió Ca, Mg, Na, K y Al por espectrofotometría de absorción/ emisión atómica de llama (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT) y H+ por titulación hasta pH 4.5 con valorador automático (Crison Instruments TT2022, Alella, España). El contenido total de metales (Mn_T, Ni_T, Cr_T, Co_T, Cu_T, Zn_T y Pb_T) fue determinado por espectrofotometría de absorción atómica de llama tras digestión ácida (HNO_3+HCl+HF) de la muestra molida en horno microondas. El contenido de metales potencialmente biodisponibles para las plantas (Mn_{EDTA}, Ni_{EDTA}, Cr_{EDTA}, Co_{EDTA}, Cu_{EDTA}, Zn_{EDTA} y Pb_{EDTA}) se determinó tras la extracción del suelo con una solución de EDTA 0.05 M (pH 4.6, relación suelo:disolución de 1:5

Tabla 2.- Procedimiento de extracción secuencial usado para el fraccionamiento de los metales en el suelo.

Paso	Fracción	Reactivo	Agitación y temperatura
1	Cambiable	NH_4NO_3 1 M (pH 4.5)	2 h a 25 °C
2	Óxidos de Mn	$NH_2OH.HCl$ 0.1 M en HCl 0.01 M	30 min a 25 °C
3	Orgánica	$Na_4P_2O_7$ 0.1 M	24 h a 25 °C
4	Óxidos amorfos de Fe	$(NH_4)_2C_2O_4$ 0.175 M + $H_2C_2O_4$ 0.1 M	4 h (oscuro) a 25 °C
5	Óxidos cristalinos de Fe	$(NH_4)_2C_2O_4$ 0.175 M + $H_2C_2O_4$ 0.1 M	3 h (UV) en agua hirviendo
6	Residual	Total (digestión HNO_3:HCl:HF) – Pasos (1-5)	

y 2h de agitación) (Ure et al., 1993). En adición, se realizó un fraccionamiento químico completo de los metales mediante una serie de extracciones secuenciales, definidas operacionalmente mediante una modificación del esquema seguido por Berti & Jacobs (1996). Este esquema distingue seis fracciones: cambiable (*CAMB*), óxidos de Mn (*MnOx*), orgánica (*OM*), óxidos amorfos de Fe (*AmFeOx*), óxidos cristalinos de Fe (*CrFeOx*) y fracción residual (*RES*) (Tabla 2).

Las plantas recolectadas (3-15 réplicas en cada localización) fueron separadas en raíz, tallo y hojas, lavadas con agua destilada (previamente con EDTA 20 mM en el caso de raíces, Greger & Landberg, 1999), secadas a 45 ºC y molidas. Tras su digestión ácida en horno microondas (HNO_3 + HCl) se determinó el contenido total de metales pesados (Co, Cu, Cr, Mn, Ni, Pb y Zn) por espectroscopia de absorción atómica (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT).

Tratamiento estadístico

En el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el paquete SPSS 11.5 para Windows de Microsoft. Para obtener homogeneidad de la varianza se hizo una transformación logarítmica de los datos siempre que fue necesario.

La detección de diferencias significativas ($P<0.05$) en la concentración de metales en plantas entre los dos muestreos realizados, en Julio de 2000 y en Mayo de 2001, se llevó a cabo mediante el test de la t de student. Un análisis de varianza (ANOVA), considerando dos factores (especies y poblaciones), permitió detectar diferencias en la concentración de cada elemento en las hojas, tallo y raíces de las plantas. En adición, se llevó a cabo una comparación múltiple de medias con un test “post hoc” Tukey para tamaños desiguales de muestras.

Para aquellas especies de plantas encontradas en un amplio rango de tipos de suelos se realizaron análisis de correlación y regresión múltiple entre la concentración de metales en hojas y raíces frente a la concentración potencialmente biodisponible (extraíble en EDTA) de metales en el suelo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de las rocas

La composición química del material geológico en los lugares de muestreo se presenta en la Tabla 3, salvo para el punto UB, en donde no se pudo recoger una muestra de la roca. Junto a los resultados obtenidos se representa la composición media para materiales similares citados en la bibliografía.

La serpentinita (S) se distingue por su contenido de SiO_2 típicamente bajo (34,23%), bajo contenido de Al_2O_3, Na_2O, K_2O y CaO y por su elevado contenido de MgO, en comparación con el resto de las rocas analizadas. Esta composición es muy cercana a la descrita para peridotitas serpentinizadas de Galicia (Calvo et al., 1987a). Las rocas básicas (B) destacan por su mayor contenido de CaO, mientras que migmatitas y esquistos (M y SC) destacan por su elevado contenido de SiO_2 (53-62%), típico de rocas ácidas, y por su mayor contenido en K_2O. En comparación con rocas similares, las de este estudio presentan de forma general bajos contenidos de Ca y elevados contenidos de Na, probablemente reflejo de la composición del magma original. Con respecto al contenido de metales pesados, las serpentinitas presentan contenidos de Cr_2O_3 (0.33%) y NiO (0.36%) ligeramente superiores a los contenidos medios citados para rocas ultramáficas y en un orden de magnitud superiores al resto de los materiales de este estudio. Es en estas rocas donde también se encuentran los mayores niveles de CoO (0.03%). Las rocas serpentiníticas de Tras Os Montes se caracterizan por la presencia frecuente de cristales de cromita, lo que justifica la elevada concentración de Cr, y por tener

Tabla 3.- Contenido medio de elementos (%) en el material original en los distintos puntos de muestreo de este estudio (S = serpentinitas, B = rocas básicas, M = migmatitas, SC = esquistos) y valores medios aportados por Vinogradov (1959). SC se representa como valor medio de SC1 y SC2.

	S	B	M	SC	Rocas ultrab.[1]	Rocas básicas[2]	Rocas ácidas[3]	Rocas sedimen.[4]
SiO_2	34.23	43.22	53.31	54.13	43.22	48.78	69.11	53.06
Al_2O_3	1.27	17.10	20.21	24.14	5.44	16.55	14.55	19.75
Fe_2O_3	10.00	16.09	9.29	5.20	14.08	12.24	3.86	4.76
MnO	0.14	0.23	0.14	0.05	0.17	0.28	0.15	0.09
MgO	34.82	7.05	4.49	0.88	23.38	7.46	0.93	2.22
CaO	0.16	1.01	0.19	0.003	10.77	9.40	2.21	3.54
Na_2O	0.40	13.88	12.33	9.87	0.77	2.62	3.73	0.89
K_2O	0.02	0.36	1.65	4.28	0.60	1.00	4.02	2.75
Cr_2O_3	0.33	$5.0\ 10^{-2}$	$5.0\ 10^{-2}$	$2.0\ 10^{-2}$	0.29	$4.3\ 10^{-2}$	$3.6\ 10^{-3}$	$2.3\ 10^{-2}$
NiO	0.36	$4.0\ 10^{-2}$	$3.0\ 10^{-2}$	$2.0\ 10^{-2}$	0.15	$2.0\ 10^{-2}$	$1.0\ 10^{-3}$	$1.2\ 10^{-2}$
CoO	$2.7\ 10^{-2}$	$2.2\ 10^{-2}$	$1.7\ 10^{-2}$	$1.5\ 10^{-2}$	$2.5\ 10^{-2}$	$5.7\ 10^{-3}$	$6.3\ 10^{-4}$	$2.9\ 10^{-3}$
CuO	$1.2\ 10^{-3}$	$4.4\ 10^{-2}$	$4.3\ 10^{-3}$	$2.9\ 10^{-3}$	$1.0\ 10^{-2}$	$1.7\ 10^{-2}$	$3.7\ 10^{-3}$	$7.1\ 10^{-3}$
ZnO	$5.6\ 10^{-3}$	$1.2\ 10^{-2}$	$9.7\ 10^{-3}$	$8.9\ 10^{-3}$	$6.2\ 10^{-3}$	$1.6\ 10^{-2}$	$7.4\ 10^{-3}$	$9.9\ 10^{-3}$
PbO	$2.2\ 10^{-5}$	$1.2\ 10^{-4}$	$6.1\ 10^{-4}$	$1.7\ 10^{-3}$	-	$8.6\ 10^{-4}$	$2.1\ 10^{-4}$	$2.1\ 10^{-3}$
P.P.C	14.43	3.22	1.51	4.81	-	-	-	-

1: Rocas ultrabásicas (dunitas, peridotitas, piroxenitas), 2: Rocas básicas (basaltos, gabros, diabasas, etc.), 3: Rocas ácidas (granitos, riolitas, etc.), 4: Rocas sedimentarias (arcillas y pizarras). Vinogradov, 1959. P.P.C = pédida por calcinación.

más forsterita (Mg_2SiO_2) que fayelita (Fe_2SiO_4) en el olivino original, lo que explica las elevadas concentraciones de Mg, Ni y Co, asociadas generalmente a la forsterita. Las rocas básicas son las que presentan las mayores concentraciones de MnO, CuO y ZnO, mientras que las rocas ácidas (M y, especialmente, SC) presentan las mayores concentraciones de PbO, que desciende exponencialmente con la transición hacia rocas de composición ultrabásica. El gran paralelismo que se aprecia entre Pb y K (Tabla 3) refleja fielmente el comportamiento geoquímico de estos dos elementos; es sabido que la cercanía entre sus radios iónicos permite la sustitución isomórfica de K por Pb durante la formación de los minerales primarios.

Caracterización de los suelos

Como era de esperar, se encontraron diferencias sistemáticas en las propiedades y la composición química de los suelos desarrollados sobre los diferentes materiales geológicos seleccionados (Tabla 4). Los suelos en S y UB se caracterizaron por presentar valores de pH ligeramente ácidos, cercanos a la neutralidad (pH_{H2O} = 6.0-6.5), dominio de Mg^{+2} en el complejo de cambio y baja relación Ca/Mg. Los valores de Ca/Mg fueron inferiores a 1 en los suelos S, típico de suelos derivados de rocas fuertemente serpentinizadas (Brooks, 1987). El pH desciende ligeramente en los suelos sobre rocas básicas (B) y mucho más en los suelos sobre rocas ácidas (M y SC), al tiempo que se va modificando la composición del complejo de cambio (Tabla 4). El Ca^{+2} es el catión dominante en los suelos B, mientras que el Al^{+3}, y en menor medida el H^+, tiene una importancia creciente en los suelos M y SC, habiéndose obtenido valores puntuales de saturación de Al^{+3} en el complejo de cambio superiores al 75%.

El contenido total de metales pesados está también fuertemente condicionado por la naturaleza del material geológico (Tabla 4). De acuerdo con la composición química de las rocas, Cr_T, Ni_T y Co_T alcanzaron sus mayores concentraciones en los suelos ultramáficos, principalmente en los suelos S (hasta 6000, 3000 y 214 mg kg^{-1}, respectivamente), valores que corroboran los presentados en un trabajo anterior por Menezes de Sequeira & Pinto da Silva (1992). Por el contrario, las concentraciones de estos metales fueron muy bajas en los suelos sobre rocas ácidas, en donde sin embargo se alcanzan las mayores concentraciones de Pb_T (hasta 82 mg kg^{-1} en SC2). Los suelos B presentaron concentraciones intermedias de Cr_T, Ni_T y Co_T, pero las mayores concentraciones de Cu_T y Zn_T (hasta 280 y 127 mg kg^{-1}, respectivamente). No existen tendencias claras para el Mn_T, aunque en M es significativamente menor ($P< 0.05$) que en el resto de los suelos estudiados.

En concordancia con los resultados obtenidos en estudios realizados en áreas serpentiníticas de Galicia (Calvo et al., 1987b), el fraccionamiento químico (Figura 2) indica que la mayor parte de los metales en S se acumulan en la fracción residual, lo que es especialmente marcado en el caso del Cr (Cr_{RES} representa >95% del Cr_T). Ni y Co tienen un

Tabla 4.- Valores medios (±SE, n=3-10) de distintas propiedades del suelo (horizontes A) de los seis lugares de estudio. S=serpentinas UB=ultrabásicas, B=básicas, M=migmatitas, SC=esquistos. Las letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas para las medias (P<0.01, α=0.05).

	S	UB	B	M	SC1	SC2
pH_{H2O}	6.5 ± 0.1 c	6.0 ± 0.2 bc	5.8 ± 0.3 b	5.0 ± 0.1 a	4.8 ± 0.1 a	4.7 ± 0.0 a
pH_{KCl}	5.5 ± 0.1 c	5.3 ± 0.0 c	5.1 ± 0.1 c	4.5 ± 0.1 b	4.5 ± 0.2 b	3.8 ± 0.1 a
C. %	2.17 ± 0.22 ab	1.79 ± 0.14 ab	3.35 ± 1.18 b	0.86 ± 0.15 a	2.25 ± 0.42 a	1.65 ± 0.42 ab
N. %	0.19 ± 0.03 ab	0.11 ± 0.01 ab	0.21 ± 0.09 b	0.05 ± 0.02 a	0.14 ± 0.03 a	0.15 ± 0.04 ab
Cationes de cambio (NH_4Cl 1N), cmol (+) kg^{-1}						
Ca^{2+}	6.34 ± 0.53 b	5.61 ± 0.07 b	19.99 ± 1.97 c	2.39 ± 0.31 a	1.13 ± 0.48 a	5.80 ± 1.47 b
Mg^{2+}	9.24 ± 0.93 c	3.66 ± 0.18 b	3.26 ± 0.61 b	0.80 ± 0.06 a	0.59 ± 0.32 a	0.99 ± 0.34 a
Na^{+}	0.03 ± 0.01 a	0.05 ± 0.00 a	0.01 ± 0.01 a	0.01 ± 0.01 a	0.04 ± 0.01 a	0.01 ± 0.00 a
K^{+}	0.29 ± 0.04 ab	0.19 ± 0.04 a	0.37 ± 0.09 ab	0.44 ± 0.11 ab	0.34 ± 0.06 ab	0.45 ± 0.08 b
Al^{3+}	-	-	-	0.75 ± 0.14 a	1.93 ± 0.35 ab	1.36 ± 0.70 b
H^{+}	-	-	-	0.08 ± 0.02 a	0.21 ± 0.07 ab	0.30 ± 0.13 b
CIC	15.91 ± 1.34 c	9.51 ± 0.25 b	23.62 ± 3.75 d	4.47 ± 0.58 a	4.24 ± 0.5 a	8.89 ± 1.05 ab
Ca/Mg	0.7 ± 0.1 a	1.5 ± 0.1 ab	6.9 ± 1.5 c	3.0 ± 0.2 b	2.4 ± 0.4 ab	6.7 ± 1.2 c
Concentración total de metales, mg kg^{-1}						
Mn_T	2451 ± 149 c	1857 ± 38 b	2197 ± 96 bc	642 ± 18 a	2596 ± 186 c	1667 ± 333 b
Cr_T	4384 ± 364 c	1277 ± 63 b	305 ± 29 a	165 ± 7a	192 ± 8 a	160 ± 30 a
Ni_T	1574 ± 199 c	963 ± 22 b	124 ± 13 a	65 ± 2 a	73 ± 4 a	62 ± 14 a
Co_T	180 ± 5 c	94 ± 1 b	95 ± 3 b	49 ± 2 a	57 ± 4 a	50 ± 0 a
Cu_T	150 ± 27 b	53 ± 3 a	260 ± 11 c	30 ± 0 a	54 ± 2 a	37 ± 7 a
Zn_T	88 ± 3 b	72 ± 2.3 a	116 ± 4 c	68 ± 3 a	91 ± 3 b	83 ± 3 b
Pb_T	21 ± 2 a	18 ± 1 a	23 ± 4 a	20 ± 0 a	40 ± 2 b	77 ± 5 c
Concentración de metales biodisponibles, mg kg^{-1}						
Mn_{EDTA}	64.8 ± 7.0 a	65 ± 9.7 a	92.1 ± 29.5 ab	69.1 ± 10.4 a	109.1 ± 18.5 ab	155.2 ± 19.2 b
Cr_{EDTA}	6.1 ± 0.8 bc	7.6 ± 0.5 c	2.5 ± 0.5 ab	1.3 ± 0.1 a	2.5 ± 0.4 ab	2.4 ± 0.2 ab
Ni_{EDTA}	117.5 ± 11.0 b	11.7 ± 0.1 ab	1.9 ± 0.3 a	1.3 ± 0.0 a	1.6 ± 0.1 a	2.5 ± 0.1 a
Co_{EDTA}	2.4 ± 0.3 a	1.4±0.1 a	1.9 ± 0.4 a	1.1 ± 0.1 a	1.3 ± 0.1 a	1.8 ± 0.3 a
Cu_{EDTA}	23.9 ± 4.9 b	3.8±0.2 ab	11.2 ± 4.3 ab	1.4 ± 0.1 a	4.0 ± 0.2 ab	2.9 ± 0.4 ab
Zn_{EDTA}	1.5 ± 0.1 a	0.8 ± 0.0 a	2.5 ± 1.0 ab	0.7 ± 0.1 a	0.9 ± 0.0 a	4.4 ± 0.8 b
Pb_{EDTA}	-	-	-	-	5.0 ± 0.2 b	13.1 ± 1.0 c

- = no detectado. Límites de detección: Al^{3+}=0.02 cmol (+) kg^{-1}, H^{+}=0.01 cmol (+) kg^{-1}, Pb_{EDTA}= 0.25 mg kg^{-1}

origen común, pero su fraccionamiento refleja la diferenciación que se produce a través de los procesos edáficos. De las fracciones no residuales, el Ni se asocia preferentemente a los óxidos de Fe (aunque en S hay cantidades importantes de todas las fracciones no residuales), mientras que el Co lo hace a los óxidos de Mn. El fraccionamiento también pone de manifiesto la afinidad del Cu por la materia orgánica (Cu_{OM} llega a suponer un 20% del Cu_T en S) y la del Zn por los óxidos de Fe (Zn_{AmFeOx} + Zn_{CrFeOx} > 20% en SC1 y SC2). En el caso del Pb y Mn, la fracción residual sigue siendo la dominante, pero se encuentran cantidades importantes de estos dos metales asociadas a óxidos amorfos de Fe y a óxidos de Mn. Adicionalmente, aunque la concentración metálica en posiciones de cambio tiene una importancia relativa escasa, se han encontrado cantidades apreciables de Ni_{CAMB}, Cr_{CAMB} y Cu_{CAMB} en los suelos S y UB (con máximos de 30, 6 y 11 mg kg^{-1}, respectivamente) y de Mn_{CAMB} y Zn_{CAMB} en los suelos B, M y SC (hasta 105 y 35 mg kg^{-1}, respectivamente), encontrándose para éstos últimos una elevada correlación con el pH del suelo (r =-0.73 y r =-0.74, p<0,001, respectivamente).

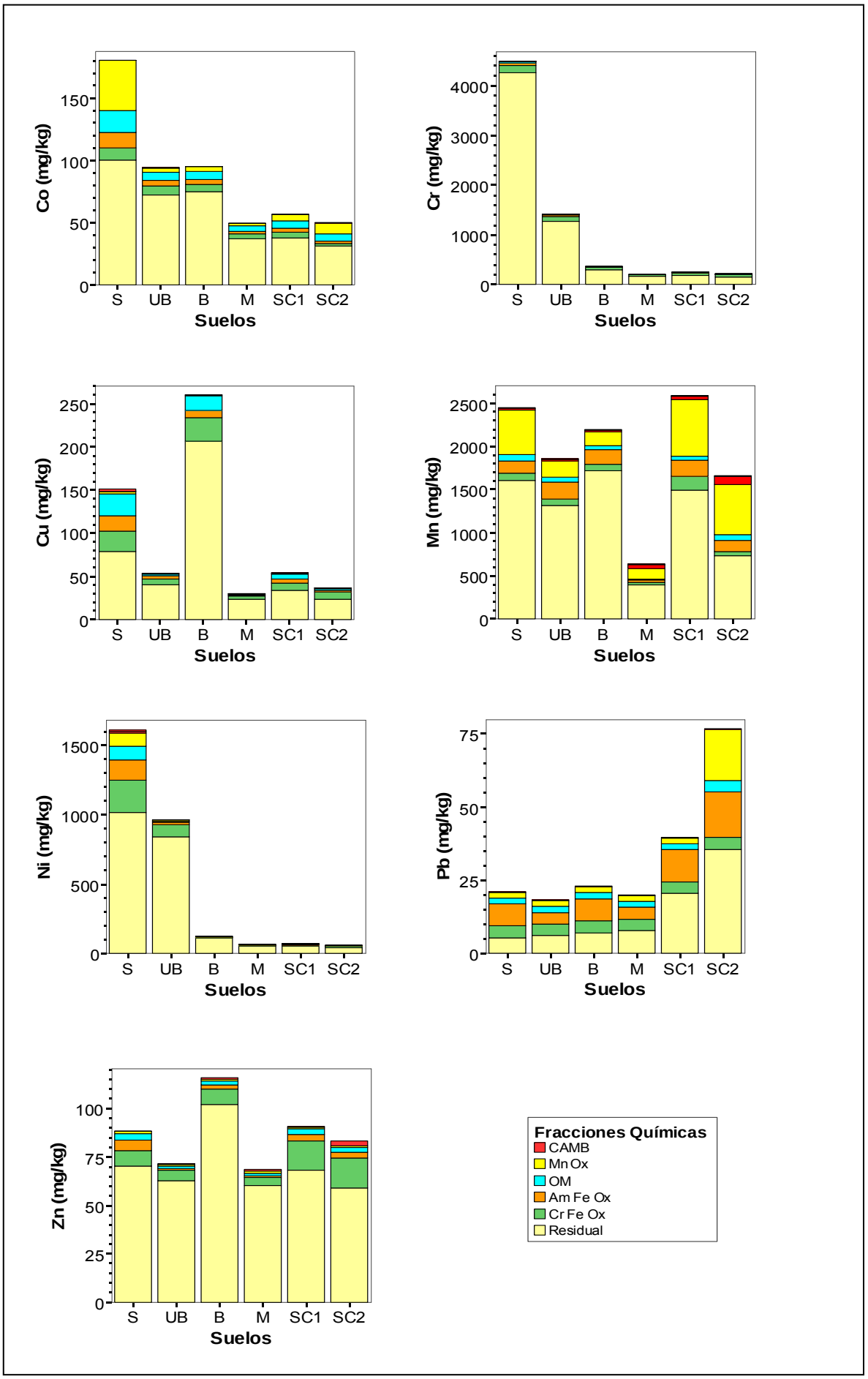

Figura 2.- Fraccionamiento químico de los metales pesados en los suelos de los lugares de estudio

La biodisponibilidad de los metales, estimada a partir de la extracción con EDTA (Tabla 4), coincide con el fraccionamiento descrito anteriormente. Las fracciones lábiles, más que el contenido total, son las que explican las variaciones de la concentración de los metales extraídos con EDTA. En este sentido, tanto Mn_{EDTA} y Zn_{EDTA} correlacionan significativamente con Mn_{CAMB} y Zn_{CAMB} (r=0.63 y r=0.73, respectivamente) y, al igual que éstas, son parcialmente dependientes del pH del suelo, encontrándose las mayores concentraciones en los suelos más ácidos (los valores medios de Mn_{EDTA} y Zn_{EDTA} fueron de 155.2 y 4.4 mg Kg^{-1}, respectivamente, en SC2). La variación de Ni_{EDTA} y Co_{EDTA} es explicada, en gran medida, por las fracciones "*Cambiable"* y "*Óxidos de Mn"* acumuladas, encontrándose correlaciones significativas $Ni_{EDTA}/(Ni_{CAMB}+Ni_{OxMn})$ y $Co_{EDTA}/(Co_{CAMB}+Ni_{OxMn})$ (r=0.92 y 0.61, respectivamente). El Ni fue el metal más biodisponible en los suelos de S, superando incluso a Mn_{EDTA}, mayoritario en el resto de los suelos. La concentración media de Ni_{EDTA} en los suelos S fue de 117.5 mg kg^{-1}, lo que supone un 7.4% de su contenido total, y desciende exponencialmente en el orden S>>UB>>B, M, SC. Aunque el Co_{EDTA} también tiende a ser mayor en los suelos de S, las concentraciones son muy bajas y las diferencias entre grupos de suelos no son significativas. El Cu_{EDTA} también presenta correlación significativa con ($Cu_{CAM}+Cu_{OxMn}$), pero ésta mejora considerablemente cuando se acumula la fracción orgánica (Cu_{EDTA} *vs* Cu_{CAM},Cu_{OxMn},Cu_{MO}, r=0.96). Las mayores concentraciones de Cu_{EDTA} se han encontrado en los suelos S, donde la fracción orgánica es la más importante. Por su parte, la biodisponibilidad relativa del Cr es siempre baja, sólo entre el 0.1% y el 1.5% del Cr total es extraído con EDTA, siendo Cr_{MO} la fracción que más contribuye a ello. En cuanto a Pb_{EDTA}, únicamente se han encontrado cantidades significativas en los suelos sobre esquisto, especialmente en SC2, donde se alcanzan 14 mg kg^{-1}.

Acumulación y transporte de metales en plantas

No existieron diferencias significativas entre la concentración de metales en las plantas recolectadas en Julio de 2000 y en Mayo de 2001 (test de student), y los resultados mostrados están basados en una combinación de los datos recabados en ambos muestreos.

Los patrones de acumulación y distribución de metales en las plantas variaron significativamente (P<0.05) en función del tipo de metal, la especie vegetal y el origen de la población. En la tabla 5 se presentan los intervalos de concentración metálica en hoja, tallo y raíz de cada una de las especies, agrupando las seis poblaciones. Generalmente, *C. multiflorus, D. gnidium* y *G. histrix* presentaron las menores concentraciones en todas las partes de la planta, mientras que las mayores concentraciones, exceptuando a *A. serpyllifolium,* fueron encontradas en *C. ladanifer, L. stoechas, P. subulata* y *T. mastichina*. Las concentraciones máximas obtenidas en estas especies fueron de 41/11/30 mg Cu kg-1, 128/26/30 mg Cr kg^{-1}, 2200/467/350 mg Mn kg^{-1}, 267/50/190 mg Ni kg^{-1} y 300/500/240 mg Zn kg^{-1} en hoja/tallo/raíz, respectivamente (Tabla 5).

Tabla 5.- Concentraciones mínimas y máximas (mg kg^{-1}) de Cr, Cu, Mn, Ni y Zn en hojas, tallos y raíces de las especies vegetales estudiadas. Los valores se basan en las seis poblaciones estudiadas.

	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
	mg kg^{-1}				
Hojas					
A. serpyllifolium	5.0–27.0	3.0–18.0	50.0–180	670–31200	10.0–255
C. ladanifer	1.8–128	2.5–15.0	20.0–2000	3.0–50.0	30.0–300
C. multiflorus	0.4–20.0	2.5–8.0	60.0–440	0.6–17.0	10.0–20.0
D. gnidium	<2.5–5.5	<2.5–12.5	95.0–445	<2.5–16.0	41.5–96.5
G. hystrix	0.8–2.5	2.5–6.0	34.5–60.0	8.0–11.5	13.0–24.0
L. stoechas	1.6–51.0	3.0–27.5	40.0–2200	2.5–95.0	30.0–170
P. subulata	7.7–80.5	15.2–41.1	80.5–229	46.4–267	36.5–71.8
S. semidentata	4.0–21.0	21.5–33.0	55.0–135	39.5–55.0	40.0–70.0
T. mastichina	2.4–55.5	5.5–19.0	21.5–485	4.0–180	17.5–145
Tallo					
A. serpyllifolium	2.5–34.0	2.5–12.0	20.0–85.0	150–4500	13.0–140
C. ladanifer	2.5–26.0	3.0–11.0	30.0–467	2.0–50.0	15.5–500
C. multiflorus	0.7–5.0	3.0–6.5	27.5–270	0.6–7.5	7.5–20.0
D. gnidium	0.9–3.8	6.5–15.0	30.0–85.0	<2.5–21.5	35.0–55.0
G. hystrix	2.2–3.0	2.5–5.0	31.5–50.0	8.0–12.5	15.0–20.5
L. stoechas	1.2–17.0	4.5–11.2	15.5–325	2.5–40.0	15.0–165
S. semidentata	4.5–5.5	8.5–10.5	15.0–30.0	14.5–20.0	15.0–25.0
T. mastichina	2.5–19.0	4.5–10.5	14.5–145	2.5–35.0	8.0–65.0
Raíz[a]					
A. serpyllifolium	3.3–19.0	2.5–9.0	10.0–80.0	90.0–2340	15.0–70.0
C. ladanifer	1.4–17.0	2.5–15.0	25.0–350	1.6–75.0	5.5–140
L. stoechas	1.8–20.0	3.5–16.0	12.5–340	0.8–80.0	8.0–44.5
P. subulata	10.0–30.0	20.5–30.0	90.0–140	50.0–190	45.0–90.0
S. semidentata	3.0–26.0	6.0–15.5	20.0–70.0	25.0–85.0	10.0–20.0
T. mastichina	2.5–30.0	5.5–25.0	14.5–235	2.5–100	4.0–240

a No se obtuvieron muestras de raíz para todas las especies.

Generalmente se acepta que la concentración total de metales en el suelo no refleja la concentración en los tejidos vegetales, mientras que la fracción potencialmente biodisponible es la que presenta generalmente una elevada correlación con la absorción vegetal (Adriano, 2001). Sin embargo, en este estudio, el contenido metálico de la planta no siempre presentó buenas correlaciones con la fracción metálica del suelo extraíble con EDTA o con la fracción cambiable obtenida en el fraccionamiento secuencial. Sólo se encontró una buena relación en el caso de Ni para *C. ladanifer*, *L. stoechas* y *T. mastichina* (Tabla 6), aunque los patrones de acumulación difirieron entre especies. La acumulación de Ni en hojas de *C. ladanifer* y *T. mastichina* aumentó con el incremento de la concentración de Ni disponible (Ni_{EDTA} o Ni_{CAMB}) en los suelos con bajo nivel de Ni, mientras que en los suelos con elevado Ni disponible el contenido de Ni en hojas se mantuvo constante (concepto "*plateau*"). La acumulación de Ni en hoja en *L. stoechas* siguió un patrón diferente, y el contenido de Ni siguió aumentando con el incremento de Ni en el suelo (Tabla 6).

Tabla 6.- Ecuaciones de las curvas que relacionan el contenido de Ni en hoja y suelo (extraído con EDTA y NH_4NO_3) para C. ladanifer, T. mastichina y L. stoechas.

Extractante	Ecuación	R^2
EDTA		
Cistus ladanifer	$\ln(y) = 3.75 - 2.72/x$	0.95
Lavandula stoechas	$y = 7.98 + 0.05x^{1.5}$	0.91
Thymus mastichina	$y^{0.5} = 2.61 + 1.02 \ln(x)$	0.94
NH_4NO_3		
Cistus ladanifer	$y = 43.60 - 8.92/x$	0.87
Lavandula stoechas	$y = 69.92 - 82.53\exp^{-x}$	0.84
Thymus mastichina	$\ln(y) = 4.05 - 0.43/x$	0.94

Las poblaciones procedentes de rocas ultramáficas (S y UB) presentaron concentraciones significativamente mayores ($P<0.05$) de Ni y Cr (sólo UB) en hoja, tallo y raíz (Figura 3). Como se esperaba, las mayores concentraciones de Ni se obtuvieron en *A. serpyllifolium*, con valores medios de 8150 y 2307 mg Ni kg^{-1} en hoja para las poblaciones de S y UB respectivamente (Tabla 5), valores sensiblemente superiores al de 1000 mg kg^{-1} utilizado por Baker et al. (2000) para definir la hiperacumulación de Ni. En una planta individual de la población S se llegaron a medir 31200 mg Ni kg^{-1} en hoja, lo que representa una concentración al menos 170 veces mayor que el resto de las especies estudiadas. Los valores de Ni en hoja de *A. serpyllifolium* desarrollado sobre los suelos S corroboran los obtenidos por Menezes de Sequeira & Pinto da Silva (1992, concentración media de 8650 mg Ni kg^{-1} en hoja) para la misma especie y lugar. La concentración de Ni en hoja en el resto de las especies se sitúa en el intervalo de 5 a 100 mg kg^{-1} propuesto por Reeves et al. (1983) para plantas desarrolladas en suelos ultramáficos. Para estas plantas Brooks (1998) propuso una concentración media de 20 mg Ni kg^{-1}, valor considerablemente menor que las concentraciones medias en hoja obtenidas en las poblaciones S de *C. ladanifer* (38 mg kg^{-1}), *L. stoechas* (53 mg kg^{-1}), *S. semidentata* (46 mg kg^{-1}) y *T. mastichina* (56 mg kg^{-1}), y 6 veces menor que la obtenida en *P. subulata* (119 mg Kg^{-1}). Para el Cr, Barceló & Poschenrieder (1997) propusieron una concentración media en hoja de 45 mg kg^{-1} en plantas desarrolladas en suelos ultramáficos, siendo raros los contenidos superiores a 100 mg kg^{-1} (Brooks, 1987). En este estudio, encontramos valores de hasta 128 y 81 mg Cr kg^{-1} en las poblaciones UB de *C. ladanifer* y *P. subulata*, respectivamente (Tabla 5 y Figura 3). Estos valores son similares a los obtenidos por Vergnano Gambi et al. (1982) para *Thlaspi rotundifolium*, un hiperacumulador de Ni, y significativamente superiores a los obtenidos en *A. serpyllifolium* en este estudio (18 mg Cr kg^{-1}). En cultivo hidropónico, la población de UB de *C. ladanifer* logró acumular hasta 1400 mg Cr Kg^{-1} en su parte aérea (Kidd et al., 2004). Los suelos de S y UB se caracterizan por elevadas concentraciones de Cr y Ni, y de acuerdo con ello, la disponibilidad de esos metales es mayor. Por ello no es sorprendente que las poblaciones de plantas originarias de estos suelos muestren mayores concentraciones de Cr y Ni en sus tejidos.

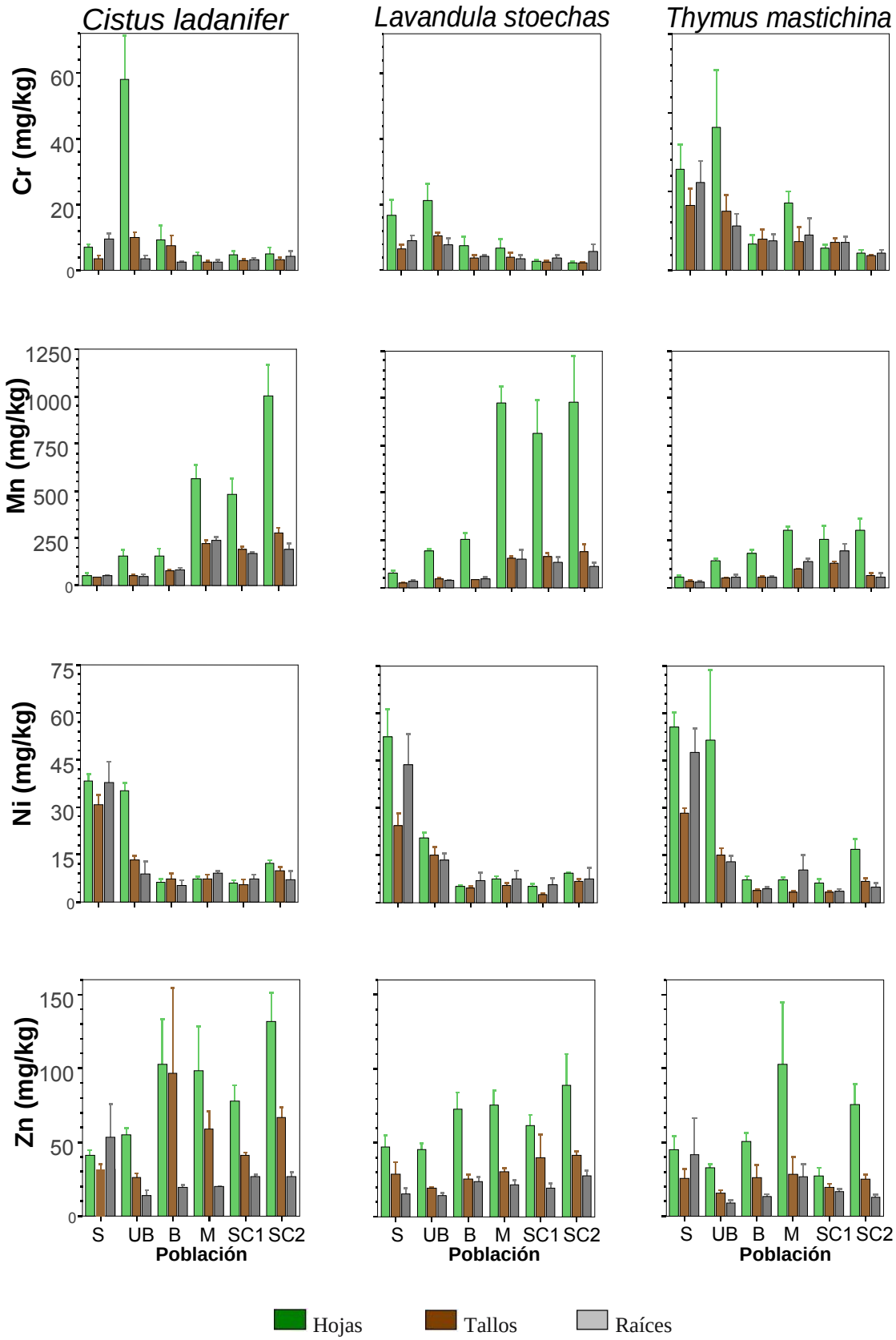

Figura 3.- Valores medios (±SE, n=3-10) de la concentración de Cr, Mn, Ni y Zn en los distintos órganos vegetales de C. ladanifer, L. stoechas y T. mastichina procedentes de los seis lugares de estudio (poblaciones). S=serpentinas UB=ultrabásicas, B=básicas, M=migmatitas, SC=esquistos.

Las concentraciones de Mn en planta fueron significativamente mayores en las poblaciones procedentes de los suelos sobre rocas ácidas (M, SC1 y SC2, $P<0.05$). Los mayores valores fueron observados en *C. ladanifer, C. multiflorus, L. stoechas* y *T. mastichina* (no significativo). En *C. ladanifer* y *L. stoechas* procedentes de SC2 se obtuvieron concentraciones máximas de 2000 y 2200 mg Mn kg^{-1}, el doble del contenido medio de Mn propuesto por Brooks (1998) para plantas desarrolladas en suelos metalíferos (1000 mg Mn kg^{-1}). En el caso del Zn, no siempre se encontraron diferencias significativas entre poblaciones, aunque las plantas desarrolladas en B, M y, particularmente, SC2 tienden a acumular más Zn en su biomasa aérea que el resto de las poblaciones (Figura 3). Las mayores concentraciones de Zn se encontraron en *C. ladanifer*, con máximos de 300 mg kg^{-1} y 500 mg kg^{-1} en hoja y tallo, respectivamente (Tabla 5). En *A. serpyllifolium*, *L. stoechas, P. subulata* y *T. mastichina* las concentraciones máximas de Zn fueron de un orden de magnitud similar (125-255 mg kg^{-1} en hoja y 65-165 mg kg^{-1} en tallo) (Tabla 5), excediendo, generalmente, la concentración crítica de toxicidad para muchas especies vegetales (100 mg kg^{-1}, según Adriano et al. 2001). En el suelo, la concentración total de Mn y Zn no presentaba una tendencia clara en función del material original y tipos de suelo (Tabla 4). Sin embargo, la biodisponibilidad de estos dos metales fue significativamente mayor en SC1 (sólo para el Mn) y SC2.

La concentración de Cu fue generalmente baja en todas las especies y poblaciones, con valores medios entre 5 y 30 mg kg^{-1}, intervalo considerado como normal (Kabata-Pendias & Pendias, 1992) y por debajo del nivel crítico de toxicidad de 30 mg kg^{-1} (Marschner, 1995). Las concentraciones máximas de Cu fueron halladas en *P. subulata*; en un individuo de la población de S se detectó 41 mg Cu kg^{-1} (Tabla 5). La concentración de Co y Pb en planta fue, en la mayoría de los casos, inferior al límite de detección (< 2,5 mg kg^{-1}).

La transferencia suelo-raíz de metales varió en función del metal y especie de planta considerados. Así por ejemplo, a pesar de la elevada cantidad de Ni en los suelos S y UB, su absorción fue restringida en la mayoría de las especies, con unas relaciones $Ni_{Raíz}$:$Ni_{Suelo(EDTA)}$ <1. La excepción a este hecho se encuentra en las poblaciones de S y UB de *A. serpyllifolium* (relaciones $Ni_{Raíz}$:$Ni_{Suelo(EDTA)}$ entre 8.7 y 15.9 en S y UB respectivamente). En contraste, las relaciones $Cr_{Raíz}$:$Cr_{Suelo(EDTA)}$ fueron habitualmente >1 (1.3-3.6) en las poblaciones de S (pero no en las de UB), y ello fue particularmente pronunciado en *P. subulata*. La eficiencia del transporte de los metales desde las raíces hacia la parte aérea en la planta se refleja en las relaciones de concentración hoja:raíz (H:R) (Tabla 7). Con pocas excepciones, la concentración de metales en hoja fue superior que la concentración correspondiente en raíz. De acuerdo al rasgo característico de las plantas hiperacumuladoras, *A. serpyllifolium* mostró una acumulación de Ni en su biomasa aérea, encontrándose relaciones medias Ni_{Hoja}:$Ni_{Raíz}$ de 10.6 (entre 1.1 y 38.1) y 11.9 (5.6-19.5) en las poblaciones S y UB, respectivamente. En el resto de las especies las relaciones medias Ni_{Hoja}:$Ni_{Raíz}$ fueron generalmente entre 1 y 3, con la excepción por un lado de *G. histrix*, que excluyó Ni de su parte aérea (media Ni_{Hoja}:$Ni_{Raíz}$ de

0.11), y por otro lado de las poblaciones UB de *C. ladanifer* y *T. mastichina,* que mostraron las mayores translocaciones de Ni hacia las hojas dentro de este grupo de especies (valores de Ni_{Hoja}:$Ni_{Raíz}$ entre 1.1 y 14.0 y entre 1.2 y 16.4, respectivamente). *A. serpyllifolium* también translocó Mn y Zn a su biomasa aérea, como reflejan los valores medios de Mn_{Hoja}:$Mn_{Raíz}$ de 3.9 y 5.6 y de Zn_{Hoja}: $Zn_{Raíz}$ de 1.3 y 1.9 en las poblaciones S y UB, respectivamente. Sin embargo, el transporte de Zn fue hasta 4 veces mayor en el resto de las especies estudiadas (excepto *P. subulata*), principalmente en *C. ladanifer* para la que la relación Zn_{Hoja}: $Zn_{Raíz}$ fue frecuentemente superior a 5 (Tabla 7). *P. subulata*, por el contrario, mostró una tendencia a acumular Zn en las raíces (relación $Zn_{parte\ aérea}$: $Zn_{Raíz}$ entre 0.5-1.5). En adición al mayor transporte de Zn desde las raíces a las hojas, en las poblaciones de serpentinitas (S) la transferencia de Zn del suelo hacia las raíces de la planta ($Zn_{Raíz}$:$Zn_{Suelo(EDTA)}$) fue significativamente mayor en *C. ladanifer* (36.3) y *T. mastichina* (27.9) que en *A. serpyllifolium* (18.5). Esto también sucedió con *P. subulata* (42.2).

La capacidad de translocar metales desde las raíces a las hojas es una característica básica en las plantas para que puedan ser utilizadas en técnicas de fitoextracción. Sin embargo, existen metales que generalmente se acumulan en la raíz, como es el caso del Cr o el Cu (Kabata-Pedias & Pendias, 1992; Zayed & Terry, 2003), y en este estudio esta característica también se cumple en determinadas ocasiones. Las relaciones Cr_{Hoja}:$Cr_{Raíz}$ fueron <1 en las poblaciones S de *C. ladanifer*, *G. histrix* y *S. semidentata*, en las poblaciones SC1 y SC2 de *L. stoechas* y en las poblaciones B y SC1 de *T. mastichina*. La relación Cu_{Hoja}:$Cu_{Raíz}$ también fue <1 en la población SC1 de *T. mastichina*. Estas relaciones sugieren un mecanismo de exclusión para la tolerancia a metales en estas poblaciones (Baker, 1981). No obstante, *A. serpyllifolium*, *C. ladanifer*, *L. stoechas, P. subulata* y *T. mastichina* fueron capaces de translocar eficientemente estos dos metales en otras ocasiones ($Metal_{Hoja}$:$Metal_{Raíz}$ > 1). En las poblaciones UB de *C. ladanifer*, *L. stoechas* y T*. mastichina* el transporte de Cr hacia las hojas fue considerablemente mayor (al menos el doble) que en las mismas poblaciones de *A. serpyllifolium* (Cr_{Hoja}:$Cr_{Raíz}$ de 1.6). La población UB de *C. ladanifer* presentó el transporte más eficaz de estos dos metales hacia su parte aérea (Cr_{Hoja}:$Cr_{Raíz}$ de 12.4 y Cu_{Hoja}:$Cu_{Raíz}$ de 2.9) (Tabla 7).

Dependiendo del metal en cuestión, los factores de bioacumulación (BF= $Metal_{Hoja}$: $Metal_{Suelo}$) mostraron diferencias significativas entre especies y poblaciones ($P<0.05$). En general, los valores de BF para Cr, Cu, Mn y Ni (exceptuando *A. serpyllifolium*) fueron de una magnitud similar (<10). Los factores de Bioacumulación obtenidos para el Zn fueron más de dos órdenes de magnitud superiores (<150, Tabla 8), indicando una relativamente mayor biodisponibilidad de Zn para las plantas. *C. ladanifer* mostró una mayor bioacumulación de Cr en los suelos UB, y los valores de BF fueron más de 7 veces mayores que los encontrados

Tabla 7.- Valores medios de la relación $METAL_{Hoja}$:$METAL_{Raíz}$ en las seis poblaciones de C. ladanifer, L. stoechas y T. mastichina. S=serpentinas, UB=ultrabásicas, B=básicas, M=migmatitas, SC=esquistos.

Población	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
Cistus ladanifer					
S	0.9	1.3	1.2	1.2	1.8
UB	12.4	2.9	5.6	6.8	6.5
B	3.1	2.0	2.0	2.0	5.1
M	1.5	1.7	2.4	0.9	6.8
SC1	1.7	2.0	2.6	1.3	2.7
SC2	1.7	2.4	6.9	3.4	5.3
Lavandula stoechas					
S	4.6	1.5	2.6	1.6	3.4
UB	3.0	2.0	5.7	1.8	3.4
B	2.0	1.3	6.5	1.2	3.1
M	2.6	1.6	9.9	2.7	3.7
SC1	0.8	1.8	8.2	1.3	3.6
SC2	0.7	1.5	9.9	2.2	3.5
Thymus mastichina					
S	1.5	1.1	2.3	1.4	2.6
UB	3.2	1.1	3.2	4.6	4.2
B	1.0	1.0	3.8	1.9	3.9
M	2.2	1.1	2.3	0.9	3.7
SC1	0.8	0.8	1.6	1.9	1.7
SC2	1.0	1.3	6.2	3.0	5.8

Tabla 8.- Valores medios de la relación $METAL_{Hoja}$:$METAL_{Suelo(EDTA)}$ en las seis poblaciones de C. ladanifer, L. stoechas y T. mastichina (factor de bioacumulación, BF). S=serpentinas, UB=ultrabásicas, B=básicas, M=migmatitas, SC=esquistos.

Población	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
Cistus ladanifer					
S	1.1	0.2	0.8	0.3	27.9
UB	7.7	2.2	2.4	3.0	72.0
B	3.7	0.9	1.7	3.3	40.7
M	3.4	4.2	8.2	5.5	138.4
SC1	3.1	12.9	1.4	3.6	36.2
SC2	2.1	2.6	6.5	4.9	29.7
Lavandula stoechas					
S	2.8	0.6	1.2	0.5	31.9
UB	2.8	3.3	3.0	1.7	59.4
B	3.0	1.2	2.8	2.7	28.7
M	5.2	7.6	14.1	5.6	106.3
SC1	1.0	2.4	7.5	3.2	65.6
SC2	1.0	3.2	6.3	3.8	20.0
Thymus mastichina					
S	2.1	0.5	0.9	0.5	30.2
UB	2.4	2.8	2.2	4.4	42.8
B	1.3	0.9	2.0	3.9	19.9
M	6.7	7.8	4.3	5.5	143.9
SC1	1.1	1.5	2.3	3.7	29.1
SC2	0.9	3.2	1.9	6.8	16.9

en *A. serpyllifolium*. En contraste, *A. serpyllifolium* mostró una capacidad impresionante para bioacumular Ni en las hojas (con valores de BF de 69.4 y 96.4 para poblaciones de S y UB, respectivamente), lo que no fue encontrado en el resto de especies estudiadas. *A. serpyllifolium* mostró también valores de BF para el Zn igualmente impresionantes en los suelos UB (se encontraron valores de BF de 26.3 y 111.1 para las poblaciones S y UB, respectivamente). Del resto de las especies, *C. multiflorus* fue la especie menos eficiente en la bioacumulación de Zn en sus tejidos (BF<30). Los valores de BF más elevados para el caso del Zn fueron encontrados en las poblaciones originarias de suelos derivados de rocas ácidas, M (BF= 97-144), seguido por las poblaciones UB (BF= 26-72). En los suelos derivados de rocas ácidas, el incremento en la biodisponibilidad de Mn fue además indicativo de los mayores valores de BF encontrados en *C. ladanifer* y *L. stoechas* (Tabla 8).

4. CONCLUSIONES

De los metales estudiados, las mayores concentraciones de Ni, Cr y Co se asociaron con las rocas de composición ultrabásica, especialmente las que presentaban rasgos de serpentinización; Cu, Zn y Mn se asociaron con las rocas de composición básica (granulitas) y Pb con las rocas ácidas, especialmente con los esquistos y rocas afines. La gran variedad geoquímica de las rocas de la región de Tras-Os-Montes juega un importante papel en el contenido y fraccionamiento de los metales pesados en el suelo y en su acumulación por las plantas.

El contenido total de metales en el suelo, pero no su biodisponibilidad, reflejó de forma general el contenido metálico en los materiales originales. De los metales asociados a rocas ultrabásicas, sólo el Ni presentó una elevada biodisponibilidad en los suelos derivados de serpentinitas; el contenido de Cr biodisponible fue siempre muy bajo y, en contraste con su contenido total, fue relativamente mayor en los suelos sobre rocas ultrabásicas no serpentinizadas; no se obtuvieron diferencias significativas de Co biodisponible entre los distintos suelos. A diferencia del contenido total en suelos y rocas, la mayor concentración de Cu biodisponible se encontró en los suelos sobre serpentinitas, mientras que en los casos del Mn y Zn en los suelos sobre esquistos.

Los patrones de absorción y acumulación de los metales en planta variaron en función de la especie vegetal y de las condiciones edáficas de su procedencia. De las nueve especies estudiadas, cuatro presentaron capacidad de bioacumular Cr, Mn y Zn en su biomasa aérea: *C. ladanifer*, *L. stoechas*, *P. subulata* y T*. mastichina.* En concordancia con la biodisponibilidad de estos metales en suelo, la acumulación de Mn y Zn fue muy acusada en las poblaciones recogidas en los suelos más ácidos (esquistos), mientras que la acumulación de Cr fue característica de las poblaciones de los suelos sobre ultrabásicas (peridotitas).

Mientras que *P. subulata* es de menor interés dada su baja producción de biomasa, las otras tres especies podrían ser utilizadas en tecnologías de fitocorrección tales como la fitoextracción. Aunque son necesarios estudios adicionales para determinar las condiciones óptimas de crecimiento, la producción de biomasa y la acumulación de metales en suelos contaminados, el uso potencial de estas especies para la revegetación de suelos contaminados resulta atractivo al tratarse de especies mediterráneas adaptadas a limitaciones ambientales muy severas, como déficit hídrico y nutritivo, temperaturas elevadas y suelos con escaso desarrollo. Esto supone en estas áreas una ventaja frente a plantas hiperacumuladoras como por ejemplo *Thlaspi sp*., que no son normalmente resistentes al calor y requieren de bajas temperaturas para promover la floración (vernalización) o frente a otras plantas de elevada biomasa, tales como *Salix sp*., que acostumbran a requerir un elevado aporte de agua (Barceló et al., 2001). En adición, las tres especies identificadas en este estudio podrían poseer un beneficio económico dado su aprovechamiento para la producción de aceites y fragancias.

5. REFERENCIAS

Adamo, P., Dudka, S., Wilson, M.J., Mchardy, W.J., 2002. "Distribution of trace elements in soils from the Sudbury smelting area (Ontario, Canada)". Water, Air, and Soil Pollution, 137, 95-116.

Adriano, D.C., 2001. "Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals". 2nd Edition. Springer-Verlag New York. Berlin Heidelberg.

Baker, A.J.M. & Walker, P.L., 1990. "Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants". En: Shaw, A.J. (ed), "Heavy metals tolerance in plants: Evolutionary aspects", pp. 156-177. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.

Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R.D., Smith, J.A.C., 2000. "Metal hyperaccumulator plants: A review of ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils". En: Terry, N. & Bañuelos, G. (eds.), "Phytoremediation of contaminated soil and water", pp. 129-158. Boca Raton, FL: Lewis Publishers.

Barceló, J. & Poschenrieder, C., 1997. "Chromium in Plants". En: Canali S., Tittarelli F., Sequi P. (eds), "Chromium Environmental Issues", pp.101-129. Italy: FrancoAngeli, Italy.

Barceló, J., Poschenrieder, Ch., Lombini, A., Llugany, M., Bech, J., Dinelli, E., 2001. "Mediterranean plant species for phytoremedition". Madrid Spain: Proceedings of the workshop of COST837; 2001.

Bech, J., Poschenrieder, C., Barceló, J., Lansac, A., 2002. "Plants from mine spoils in the south American area as potential sources of germplasm for phytoremediation technologies". Acta Biotechnologica, 22: 5–11.

Berti, W.R & Cunningham, S.D., 2000. "Phytostabilization of metals". En: Raskin, B.D & Ensley, B.D, (eds.), "Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean-up the environment", pp. 71–88. New York: John Wiley and Sons, Inc.; 2000.

Berti, W.R. & Jacobs, L.W., 1996. "Chemistry and phytotoxicity of soil trace elements from repeated sewage sludge applications". Journal of Environmental Quality, 25: 1025-1032.

Brooks, R.R., Lee, J., Reeves, R.D., Jafrè, T., 1977. "Detection nickeliferous roks by analysis of herbarium specimens of indicator plants". Journal of Geochemical Exploration, 7: 49-57.

Brooks R.R., 1987. "Serpentine and its vegetation: a multidisciplinary approach". Portland, OR: Dioscorides Press.

Brooks, R.R., 1998. "Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining". CAB International, Wallingford, UK.

Calvo de Anta, R, Alvarez Rodríguez, E., López Mosquera, E., 1987a. “Primeros datos sobre la especiación de Cr, Ni y Cu existentes en suelos serpentiníticos de Galicia”. En: “El suelo, Fertilidad y Fertilizantes”, pp. 151-158. EFCE Publication Series nº 68, ANQUE.

Calvo, R., Macías, F., Buurman, P., 1987b. “Procesos de Alteración y Neoformación mineral en medios serpentínicos de Galicia”. Cuadernos del Laboratorio Xeolóxico de Laxe, 11: 161- 170.

Carballeira, A., Devesa, C., Retuerto, R., Santillan, E., Ucieda, F., 1983. “Bioclimatología de Galicia”. Conde de Fenosa, La Coruña: Fundación Pedro Barrié de la Maza.

CEC (Commission of the European Communities), 1986. “Council Directive of 12 June 1986, on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture”. Official journal of the European Communities, L181 (86/2781EEC): 6–12.

Chaney, R.L., 1983. “Plant uptake of inorganic waste constitutes”. En: Parr, J.F., Marsh, P.B., Kla, J.M. (eds.), “Land Treatment of Hazardous Wastes”, pp. 50-76. Noyes Data Corp., Park Ridge.

Cunningham, S.D., Berti, W.R., Huang, J.W., 1995. “Remediation of contaminated soils and sludges by green plants”. En: Hinchee, R.E., Means, J.L., Burris, D.R. (eds.), “Bioremediation of Inorganics”, pp. 33-54. Batelle Press, Columbus-Richland.

Ernst, W.H.O., 1990. “Mine vegetation in Europe”. En: Shaw, A.J. (ed), “Heavy metals tolerance in plants: Evolutionary aspects”, pp. 22-32. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.

FAO, 1998. “World reference base for soil resources”. FAO, Rome: World Soil Resources Reports, No. 84.

Greger M. & Landberg T., 1999. “Use of willow in phytoextraction”. International Journal of Phytoremediation, 1: 115-123.

Iglesias, M.P.L., Ribeiro, M.L., Ribeiro, A., 1983. “La interpretación aloctonista de la estrutura del Noroeste peninsular”. En: Instituto Geológico Minero de España (ed.), “Geologia de España, Libro Jubilar J.M. Rios, Vol 1”, pp 459-467.

Kabata-Pendias, A. & Pendias, H., 1992. “Trace elements in soils and plants”. Boca Raton, FL: CRC Press.

Kidd, P.S., Diez, J., Monterroso Martínez, C., 2004. “Tolerance and bioaccumulation of heavy metals in five populations of *Cistus ladanifer* L subsp *ladanifer*”. Plant and Soil, 258: 189– 205.

Korcak, R.F. & Fanning, D.S., 1985. “Availability of applied heavy metals as a function of type of soil material and metal source”. Soil Science, 140: 23-34.

Marschner, H., 1995. “Mineral nutrition of higher plants”. 2nd Edition. Academic Press, New York.

McGrath, S.P., Shen, Z.G., Zhao, F.J., 1997. “Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils”. Plant and Soil 188, 153-159.

McGrath, S.P., Zhao F.J., Lombi E., 2002. “Phytoremediation of metals, metalloids and radionuclides”. Advances in Agronomy, 75:1-56.

McIntyre, T., 2003. “Phytoremediation of heavy metals from soils in phytoremediation”. En: Tsao, D.T, (ed.), “Advances in biochemical engineering biotechnology”, pp. 97– 124. Germany: Springer-Verlag; 2003.

Meireles, C., 2000. “Carta Geológica de Portugal à escala 1: 50.000. Noticia explicativa da Folha 3-D (Espinhosela)”. Instituto Geológico e Mineiro, Lisboa, 64 p.

Menezes de Sequeira, E. & Pinto da Silva, A.R., 1992. “Ecology of serpentinized areas of north-east Portugal”. En: Roberts, B.A. & Proctor, J., (eds). “The ecology of areas with serpentinized rocks”, pp. 169-197. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Miner, G.S., Gutierrez, R., King, L.D., 1997. “Soil factors affecting plant concentrations of cadmium, Copper, and Zinc on sludge-amended soils”. Journal of Environmental Quality, 26: 989-994.

Morel, J.L., 1997. “Bioavailability of trace elements to terrestrial plants”. En: Tarradellas, J., Bitton, G., Rossel, D. (eds.). “Soil Ecotoxicology”, pp 141-176CRC Press Inc., Boca Raton.

Peech, M., Alexander, L.T., Dean, L.A., Deed, J.F., 1947. "Methods of soils analysis for soil fertility investigatons". United States Department of Agriculture - Cir. 757. U.S. Gov. Print. Office, Washington, DC.

Pereira, D.I., 1997. "Sedimentologia e Estratigrafia do Cenozóico de Trás-os-Montes oriental (NE Portugal)". Tese de Doutoramento, Univ. Minho.

Pulford, I.D. & Watson, C., 2003. "Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review". Environment International, 29: 529– 40.

Reeves R.D., Brooks R.R., Dudley T.R.. 1983. "Uptake of nickel by species of *Alyssum*, *Bornmuellera* and other genera of old world tribus *Alysseae*". Taxon, 32:184-192.

Ribeiro, A., Pereira, E., Dias, R., 1990. "Structure of Centro-Iberian Allochthon in Northern Portugal". En: Dallmeyer, R.D. & Martinez, E. (eds*),* "Pre-Mesozoic Geology of Iberia", pp. 220-236. Springer Verlag, Heidelberg.

Robinson, B.H., Mills, T.M., Petit, D., Fung, L.E., Green, S.R., Clothier, B.E., 2000. "Natural and induced cadmium-accumulation in poplar and willow: Implications for phytoremediation". Plant and Soil, 227: 301-306.

Ross, S.M., 1994."Sources and forms of potentially toxic metals in soil-plant systems" En: Ross, S.M. (ed.), "Toxic metals in soil-plant systems", pp. 3-25. John Wiley & Sons; Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore.

Ure, A.M., Quevauviller, P., Muntau, H., Griepink, B., 1993. "Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities". International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 51: 135-151.

Vangronsveld, J. & Cunningham, S.D., 1998. "Metal-contaminated soils: in situ inactivation and phytorestoration". New York: Springer-Verlag.

Vassilev, A., Schwitzguébel, J.P., Thewys, T., Van der Lelie, D., Vangronsveld, J., 2004. "The use of plants for remediation of metal contaminated soils". Science World, 4: 9– 34.

Vergnano Gambi, O., Gabbrielli, R., Pancaro, L., 1982. "Nickel, chromium and cobalt in plants from italian serpentine areas". Acta Oecologica, 3: 291-306.

Vinogradov, A.P., 1959. "The geochemistry of rare and dispersed chemical elements in soils". ISBN 59-9231. Consultans Bureau Inc., New York.

Weng, L., Temminghoff, E.J., Van Riemsdijk, W.H., 2001. "Contribution of individual sorbents to the control of heavy metal activity in sandy soil". Environmental Science & Thecnology, 35: 4436-43.

Wenzel, W.W., Bunkowski, M., Puschenreiter, M., Horak, O., 2003. "Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil". Environmental Pollution, 123: 131– 8.

Zayed, A.M., Terry, N., 2003. "Chromium in the environment: factors affecting biological remediation". Plant and Soil, 249: 139–56.

CAPÍTULO 3

DISTRIBUCIÓN Y ESPECIACIÓN QUÍMICA DE METALES PESADOS EN SUELOS Y VEGETACIÓN DE LA ANTIGUA EXPLOTACIÓN MINERA DE Pb/Zn DE RUBIAIS

Resumen:
El yacimiento de Pb/Zn de Rubiais (Lugo), abandonado desde principios de los 90, podría suponer una fuente de contaminación de metales pesados y favorecer el desarrollo de plantas tolerantes de interés potencial en técnicas de fitocorrección. En este trabajo se estudia la distribución y especiación química de metales pesados (Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Mn, Pb, Zn) en los suelos de mina y su transferencia a la vegetación desarrollada sobre ellos. Para ello se tomaron muestras de suelo a dos profundidades (0-15 cm y 15-30 cm) y de plantas en 39 puntos de muestreo definidos a lo largo de toda la zona afectada por la explotación. Los resultados mostraron el dominio de suelos neutros (pH 6.6-7.3), pobres en materia orgánica y nutrientes, especialmente N y K. El contenido en S también fue usualmente bajo (< 0.05%) y presentaron una gran capacidad de amortiguación de ácidos debido a la existencia de carbonatos. La CIC_e es de baja a muy baja, con dominio de cationes básicos en las posiciones de cambio, principalmente Ca^{+2}. La concentración total de metales en los suelos es elevada y normalmente heterogénea a lo largo del yacimiento (2-95 mg kg^{-1} Cd, 5-27 mg kg^{-1} Co, 2-21 mg kg^{-1} Cr, 21-160 mg kg^{-1} Cu, 0.3-25 mg kg^{-1} Hg, 5-41 mg kg^{-1} Ni, 730-5800 mg kg^{-1} Mn, 46-6100 mg kg^{-1} Pb y 340-52000 mg kg^{-1} Zn), con valores generalmente más elevados en la antigua zona de manipulación del mineral (RM). La comparación de las concentraciones totales con algunos límites de toxicidad apunta a suelos fuertemente contaminados en Zn, Pb, Cd y Hg, y en algunos puntos ligeramente contaminados en Cu y Ni. El estudio de la especiación de estos metales en la fase sólida del suelo demuestra que la fracción soluble e intercambiable representa usualmente porcentajes pequeños (<5%), y únicamente resultan llamativos en el caso del Cd, con valores de hasta el 50%. No obstante, los valores absolutos de concentración de esta fracción son elevados en gran parte de los puntos de muestreo, principalmente para el caso del Zn, lo que supone un elevado riesgo por la movilidad de metales. En adición, el estudio de la fracción potencialmente biodisponible (extraíble en EDTA) demuestra un elevado riesgo de absorción y acumulación de metales en la vegetación colonizadora del yacimiento, fundamentalmente de metales como el Zn, el Pb, el Cd y el Cu (con valores de hasta un 80% en formas potencialmente biodisponibles). Las especies más frecuentes del yacimiento (*Cytisus scoparius*, *Cytisus multiflorus*, *Betula celtibérica* y *Salix atrocinerea*) mostraron una gran variabilidad en el contenido de metales en sus hojas. No se encontraron especies hiperacumuladoras, y las concentraciones máximas de los metales contaminantes se detectaron en *S. atrocinerea* (800 mg kg^{-1} Zn, 4.2 mg kg^{-1} Cd y 29 mg kg^{-1} Cu) y en *C. scoparius* en el caso del Pb (19 mg kg^{-1}). *B. celtibérica* y principalmente *S. atrocinerea* se mostraron usualmente como especies acumuladoras de Zn y Cd dentro del yacimiento, con Factores de Bioacumulación (FB) de hasta 44 y 30 para Zn y Cd, respectivamente. Dado que estos valores de FB son comparables a los obtenidos por muchas hiperacumuladoras en condiciones de campo, podrían considerarse especies potencialmente útiles en procesos de fitoextracción bajo determinadas circunstancias. Por otro lado, especies ampliamente tolerantes a elevados niveles de metales en suelos, como *C. scoparius* y *C. multiflorus*, se muestran generalmente como especies exclusoras, y podrían resultar interesantes en procesos de fitoestabilización y revegetación de suelos contaminados.

1. INTRODUCCIÓN

Las actividades industriales asociadas a la extracción de minerales metálicos provocan una serie de alteraciones físico-químicas en el medio que son causa de impactos ambientales graves que pueden llegar a ser irreversibles e irrecuperables. En este sentido, aspectos del medio físico como el paisaje, el agua, el aire, el suelo y los seres vivos pueden verse gravemente afectados (Pagés Valcarlos, 1993). Los materiales residuales generados, tales como estériles, mixtos de trituración, lodos, efluentes de lavado del mineral, etc., contienen frecuentemente altas concentraciones de metales pesados (Monterroso, 1995; Adriano, 2001) que pueden llegar a ser incorporados a los suelos y a las aguas mediante reacciones de oxidación y meteorización (Alloway, 1995). La movilización de metales pesados en los suelos de yacimientos mineros y su toxicidad ha sido estudiada en numerosas ocasiones durante las últimas décadas, poniendo en evidencia el grave riesgo ambiental asociado (Perez & Calvo, 1992; Taylor et al., 1992, 1993; Monterroso et al., 1999; Clark et al., 2001; Aslibekian & Moles, 2003). En adición, hasta la aparición de algunas disposiciones legales que existen actualmente, el cese de los trabajos no llevaba añadida la menor medida de restauración, por lo que muchos yacimientos mineros abandonados continúan representando frecuentemente importantes focos de contaminación por metales pesados hacia las aguas, suelos y aire (Alloway, 1995; Freedman, 1995; Wilson & Pyatt, 2007).

El riesgo ambiental derivado de la contaminación por metales pesados se relaciona directamente con la concentración, especiación y biodisponibilidad específica de cada metal, que determinan su reactividad, movilidad y su capacidad de ser absorbidos por las plantas y animales del entorno (McBride, 1994; Luo & Christie, 1998; Pueyo et al., 2007). Estos factores suelen variar vertical y lateralmente a lo largo de un mismo yacimiento minero debido a la heterogeneidad originada por los movimientos de tierras realizados durante la extracción mineral (Shu, 1997). Determinadas propiedades físico-químicas del suelo, principalmente el pH, temperatura, potencial redox, capacidad de intercambio de cationes y la composición de la solución del suelo (con otros iones metálicos competidores y aniones complejantes) controlan, por su parte, el fraccionamiento de metales en distintas formas de la fase sólida del suelo (Morera et al., 2001; Merian, 1991). El contenido en arcillas y oxihidróxidos de Fe y Mn, altos porcentajes de materia orgánica y la presencia de carbonatos, parece que pueden producir una importante retención de metales pesados en los suelos mediante procesos de adsorción y formación de complejos y precipitados estables (Elliot et al., 1986; McKenzie, 1989; McBride, 1994; Madrid & Días-Barrientos, 1992; Narwal & Singh, 1998; Kraemer & Hering 2004). La alta salinidad en algunos espacios mineros, por el contrario, incrementa el impacto ambiental facilitando la movilidad de algunos metales al producirse un reemplazamiento parcial de los iones metálicos adsorbidos por los cationes procedentes de las sales que están disueltas en la solución del suelo (Peris et al., 2007). En adición, determinados aniones procedentes de sales, fundamentalmente el ión cloruro, pueden formar complejos solubles estables con metales pesados como Cd, Zn y Hg.

La alta concentración y biodisponibilidad de metales pesados a lo largo de los terrenos afectados por los yacimientos mineros (Bradshaw & Chadwick, 1980), así como otras condiciones adversas asociadas a estos ambientes, tales como los bajos valores de pH (Monterroso, 1995; Wong et al., 1998), baja capacidad de retención de agua (Henriques & Fernández, 1991; Norland & Veith, 1995), alta compactación del terreno, bajos niveles de materia orgánica y nutrientes, etc. (Wong, 2003), provoca un escaso desarrollo de vegetación natural. Esto puede agravar en algunos casos el problema de la movilización y dispersión de los metales contaminantes hacia acuíferos y áreas agrícolas/rurales adyacentes, ya que en función de los patrones climáticos e hidrogeológicos los procesos erosivos y de arrastre de partículas pueden acentuarse (Ristic et al., 2001; Chen et al., 1999; Haygarth & Jones, 1992). No obstante, en muchos yacimientos se encuentran algunas especies de plantas tolerantes a este tipo de ambientes que pueden extenderse fácilmente dada la falta de competidores (Macnair, 1987). Este tipo de plantas producen una revegetación parcial de las escombreras mediante una colonización natural lenta y espontánea que protege en gran medida el terreno frente a la erosión.

La vegetación tolerante a elevadas concentraciones de metales en los suelos, como es la vegetación colonizadora de los yacimientos mineros, presenta, en adición, un uso potencial en distintas fitotecnologías de restauración. La diversidad vegetal y la presencia de genes para la tolerancia a metales suele ser baja, pero la alta presión selectiva de estos suelos posibilita la selección de poblaciones con tolerancias mucho mayores que otras poblaciones de su misma especie (Baker & Proctor, 1990; Wu, 1990; Shu et al., 2002; Molitor et al., 2005). Esta tolerancia deriva del desarrollo de diferentes estrategias basadas en mecanismos que les permiten (hiper)acumular metales en formas no tóxicas o, por el contrario, excluirlos fuera de sus tejidos (Baker, 1981). Las especies hiperacumuladoras de metales copan la literatura referente a este tema, en gran medida por el deseo de transferir el carácter hiperacumulador a especies cultivables para su uso en fitocorrección, fitominería y biofortificación (Chaney, 1983; Baker & Brooks, 1989; Brooks, 1998; Salt et al., 1998; Guerinot & Salt, 2001; Macnair, 2003; Krämer, 2005). Sin embargo, son pocas las especies hiperacumuladoras conocidas y sólo unas pocas son capaces de acumular varios metales a la vez, por lo que el empleo de otro tipo de especies tolerantes podría cobrar importancia. Existe un gran número de estudios que evidencian que los procesos evolutivos influyen en la hiperacumulación, pero se requiere un esfuerzo de muestreo considerable para explorar mejor este fenómeno. En este sentido, es conveniente buscar plantas que han colonizado espontáneamente yacimientos mineros desde hace suficiente tiempo como para que estén completamente adaptadas a estos ambientes contaminados.

Algunos autores han estudiado la presencia natural de vegetación en zonas mineras de regiones áridas y semiáridas del territorio español (Leita et al., 1989, 1998; Melendo et al.,

2002; Flores-Tavizón et al., 2003; Alvarenga et al., 2004; Henriques & Fernández, 1991; Conesa et al., 2006), así como de regiones húmedas atlánticas (Alvarez et al., 2003; Becerril et al., 2007), determinando el contenido de metales presentes en sus tejidos y su posible utilización en procesos de fitocorrección. La detección de especies hiperacumuladoras ha sido escasa, pero la identificación de especies vegetales tolerantes a elevados niveles de metales en los suelos incrementa, no obstante, las expectativas de éxito de los procesos de fitocorrección de suelos contaminados. Así por ejemplo, cultivares de especies de gramíneas hipertolerantes al Zn han sido seleccionadas y usadas con éxito en la revegetación de suelos contaminados con Zn, Pb y otros metales pesados después de actividades mineras, incluyendo *Festuca rubra* L. cv. Merlin y *Agrostis capillaris* L. cv. Groginan para residuos calcáreos y ácidos respectivamente (Smith & Bradshaw, 1979; Whiting et al., 2005). La revegetación de áreas degradadas con este tipo de especies ayuda a estabilizar el suelo y a recuperar los ciclos en la capa superficial, y es el primer paso en la descontaminación o fitocorrección. La identificación de nuevas especies pioneras de rápido crecimiento capaces de crecer en suelos pobres contaminados, tales como aquellos originados sobre los residuos mineros, y el estudio de su comportamiento frente a los metales, continúa siendo, por tanto, de gran importancia en el desarrollo de la fitocorrección (Alvarez et al., 2003).

El presente trabajo trata de evaluar el riesgo ambiental y el tipo de amenazas presentes sobre un antiguo yacimiento de Pb/Zn de la provincia de Lugo, el "yacimiento de Rubiais", mediante el análisis de distintas propiedades físico-químicas de los suelos y la determinación de la extensión y distribución de la contaminación en metales pesados. Así mismo, se pretende identificar las especies vegetales dominantes en el yacimiento y evaluarlas en función de su capacidad de colonizar suelos con elevadas concentraciones de metales potencialmente biodisponibles. La determinación del grado de acumulación de metales en los tejidos aéreos de las plantas colonizadoras permitirá, en adición, discutir sobre su utilización potencial en procesos de fitocorrección.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El yacimiento de Rubiais está situado al Sureste de la provincia de Lugo (España), en el municipio de Pedrafita do Cebreiro, con unas coordenadas UTM 660781 / 4726800. Se encuentra a 1100 m de altitud, enclavado en una zona montañosa dentro del "Dominio del Manto de Mondoñedo", representando unas capas de transición en donde afloran las llamadas "Serie de Cándana" y la "Caliza de Vegadeo". Las rocas existentes en el yacimiento alternan entre areniscas, cuarcitas y pizarras por un lado y calizas y dolomias que aparecen en capas lentejonares de extensión y potencia muy variable por el otro. Los suelos dominantes encontrados en el entorno son de tipo Regosoles y Leptosoles alumi-úmbricos (Arias-Prieto, 1991).

El clima de la zona es de tipo oceánico de montaña, con veranos cortos y frescos (15-16 ºC) e inviernos fríos y largos (0-2 ºC) con frecuentes precipitaciones sólidas. Las temperaturas medias anuales giran en torno a 8-9 ºC, aunque existe una elevada amplitud térmica (13-16 ºC) (Carballeira et al., 1983; Xunta de Galicia, 2005). Los datos registrados en la estación Veiga de Brañas-Rubiais muestran en torno a 200 días o menos libres de heladas (Carballeira et al., 1983). Las precipitaciones son abundantes, con una media anual en torno a 2000 mm y un reparto Invierno>Otoño>Primavera>Verano, con mínimos en los meses de Julio y Agosto (20-50 mm) (Xunta de Galicia, 2005). Siguiendo la clasificación de Dominios Ombrotérmicos de Martínez Cortizas & Perez Alberti (1999), el yacimiento de Rubiais se encontraría en un régimen ombrométrico hiperhúmedo con una variante termométrica fría (Xunta de Galicia, 2005). Con relación a la clasificación fitoclimática de Allué (1990), el yacimiento se encuentra en una zona de tipo Nemoral genuino. Finalmente, según la "clasificación Bioclimática mundial" (Rivas Martínez & Loidi, 1999) el yacimiento se encuentra en una variante típica de macroclima templado, en un horizonte bioclimático supratemplado inferior y un ombrotipo hiperhúmedo inferior. El "período de actividad anual", que define el intervalo anual en el que no existen limitaciones termométricas para el crecimiento continuado de la vegetación (<7,5ºC como temperatura media mensual (Rivas Martínez, 1987; Rivas Martínez & Loidii, 1999; Montero de Burgos & González Rebollar, 1983), es de 6 meses (Xunta de Galicia, 2005).

El yacimiento comenzó a ser explotado a partir de 1977 por la empresa EXMINESA, y los elementos beneficiados estaban asociados a blenda y galena. La extracción anual prevista mediante el método de extracción V.C.R. ("vertical crater retreat") fue de 730000 T/año (2000 T/día). La separación del mineral tuvo lugar por flotación en una gran balsa de decantación, obteniéndose unos concentrados del 61% en Zn, con 0,12% de Cd y 0,16% de Hg como valores más significativos, y concentrados de Pb con un 70% de pureza y 450 g t^{-1} de Ag. Las recuperaciones fueron del 95,5% para el Zn y del 90% para el Pb, manteniéndose la actividad minera hasta principios de los 90 (Arias-Prieto, 1991).

Actualmente el área minera se encuentra abandonada, y pueden establecerse dos zonas bien diferenciadas en base a las distintas operaciones que se llevaron a cabo en cada una de ellas. Una podría denominarse como "Zona de Mina" (RM), con una superficie de unas 11,3 ha, en donde se llevaron a cabo procesos de beneficiación del mineral (trituración, molienda, concentración…), y en donde se conservan parte de las instalaciones y cúmulos de estériles de la roca triturada. La otra zona puede denominarse "Zona de Escombrera" o "Balsa de lodos" (RE), con una superficie aproximada de unas 30 ha y en donde se han acumulado todos los lodos derivados de las operaciones de lavado y espesamiento del mineral, rellenando totalmente la antigua balsa de decantación de lodos (Figura 1). Sobre gran parte de los terrenos afectados por el yacimiento, principalmente sobre RE, se ha extendido una capa poco profunda de un sustrato terroso como medida de restauración, acompañado de una plantación de diferentes especies arbóreas y arbustivas y posiblemente siembra de herbáceas. La gran

mayoría de los terrenos afectados se encuentran en proceso parcial de colonización vegetal, con dominio fundamentalmente de matorral de *Cytisus* y *Erica*, especies arbóreas como *Betula* y *Salix* y diversas herbáceas.

Toma de muestras

Los puntos de muestreo fueron seleccionados en base a una red homogénea en forma de cuadrícula 100x100 m diseñada sobre un mapa topográfico 1:5000 de la zona (Xunta de Galicia, hoja 125-84), ajustando algunos de los puntos en base a las propias dificultades orográficas del terreno y a criterios de similitud o singularidad de puntos contiguos. En la figura 1 se representa la configuración definitiva de la red de muestreo y en la tabla 1 las coordenadas UTM de cada uno de los puntos en las dos zonas diferenciadas del yacimiento, resultando un total de 30 puntos de muestreo en RE y 9 puntos de muestreo en RM.

En cada uno de los puntos de muestreo se recogieron muestras de suelo a dos profundidades, entre 0-15 cm (I) y entre 15-30 cm (II), con el objetivo de considerar las posibles diferencias existentes en la primera capa de sustrato añadida durante los procesos de restauración. Las muestras RM3, RM4, RM8 y RM9 representaron una excepción, ya que debido a la compactación del estrato no se consiguió extraer muestra entre 15-30 cm. La muestra de suelo en cada punto y a dos profundidades fue realmente una muestra combinada formada por 5 “alícuotas” de suelo correspondientes al punto de muestreo seleccionado y a 4 “alícuotas” más tomadas a 10 m del punto seleccionado en las 4 direcciones cardinales. Esta forma de muestreo garantiza una representación más real del área que se pretende estudiar, debido a la gran heterogeneidad que normalmente caracteriza a este tipo de ambientes mineros.

Los trabajos de muestreo se completaron mediante la recolección de hojas/ramas de las especies vegetales representativa de cada punto, con excepción de RE1 y RM9 en donde no se encontró crecimiento de vegetación. En total se recolectaron 106 muestras de vegetación, que en algunos casos fueron identificadas tan sólo a nivel de género. Las especies representadas son *Cytisus scoparius* (L.) Link. (Fabaceae), *Cytisus multiflorus* (L´Hér) Sweet. (Fabaceae), *Hieracium sp*. (Asteraceae), *Rosa sp*. (Rosaceae), *Erica arborea* L. (Ericaceae), *Taraxacum officinale* Weber (Asteraceae), *Betula celtiberica* Rothmaler & Vasconcellos (Betulaceae), *Salix atrocinerea* L. (Salicaceae) y *Lotus corniculatus* L. (Fabaceae).

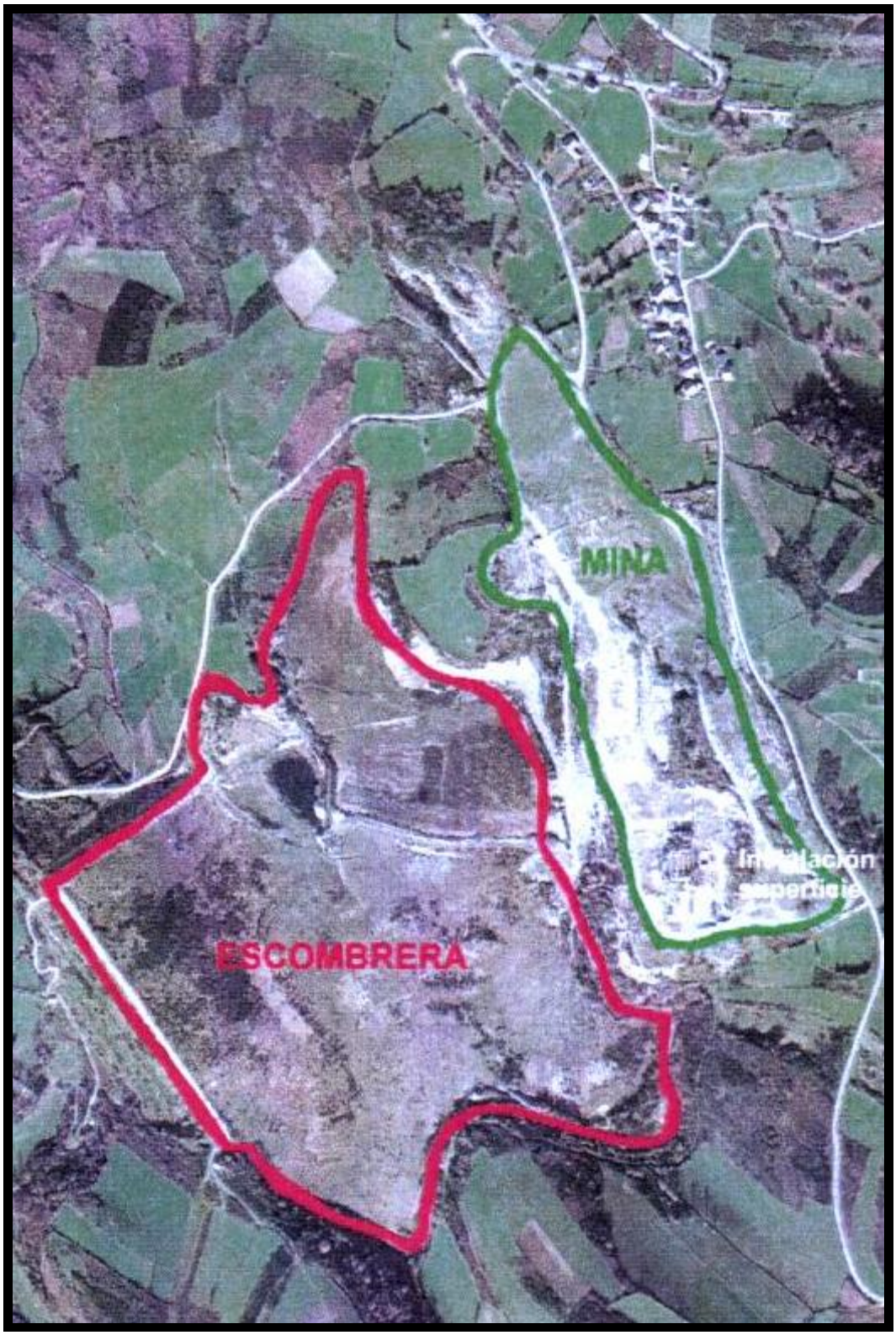

Figura 1.- Fotografía aérea de la mina de Rubiais (Fuente:SITGA) y localización de los puntos de muestreo en el mapa topográfico 1:5000. En rojo se muestra la "zona de escombrera" (RE) y en verde la "zona de mina" (RM).

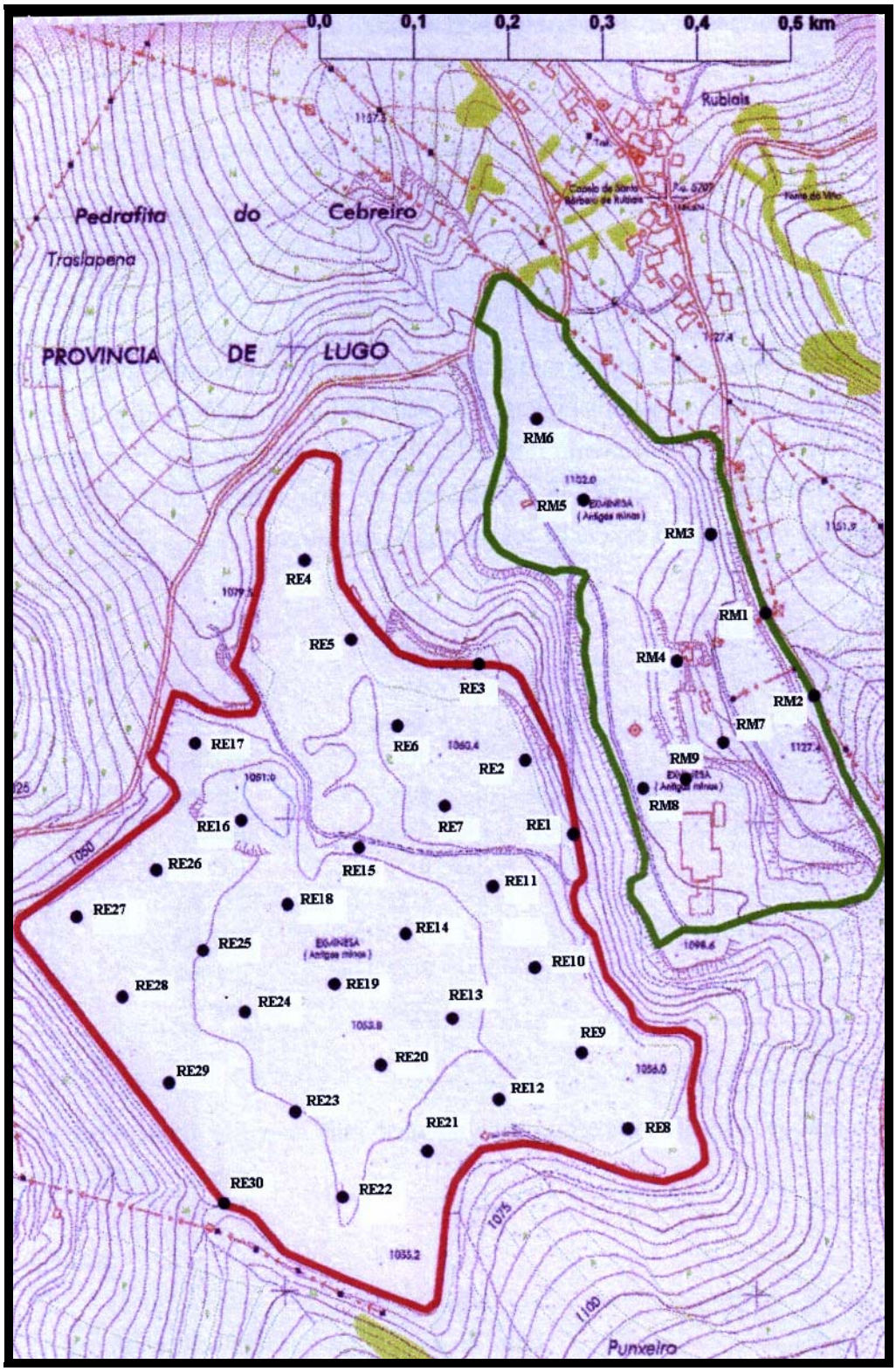

Figura 1(continuación).- Fotografía aérea de la mina de Rubiais (Fuente:SITGA) y localización de los puntos de muestreo en el mapa topográfico 1:5000. En rojo se muestra la "zona de escombrera" (RE) y en verde la "zona de mina" (RM).

Tabla 1.- Coordenadas UTM de los puntos de muestreo.

Punto de Muestreo	UTM	Punto de Muestreo	UTM
RE1	660800/4726485	RE21	660650/4726150
RE2	660750/4726565	RE22	660560/4726100
RE3	660642/4726217	RE23	660510/4726190
RE4	660515/4726775	RE24	660455/4726295
RE5	660565/4726690	RE25	660410/4726360
RE6	660615/4726600	RE26	660360/4726445
RE7	660665/4726515	RE27	660275/4726395
RE8	660862/4726175	RE28	660325/4726310
RE9	660812/4726255	RE29	660375/4726220
RE10	660762/4726345	RE30	660425/4726085
RE11	660717/4726430	RM1	661000/4726720
RE12	660725/4726205	RM2	661050/4726630
RE13	660675/4726290	RM3	660945/4726805
RE14	660625/4726380	RM4	660910/4726670
RE15	660575/4726470	RM5	660810/4726840
RE16	660450/4726498	RM6	660760/4726925
RE17	660400/4726580	RM7	660960/4726585
RE18	660500/4726410	RM8	660875/4726535
RE19	660550/4726325	RM9	660920/4726545
RE20	660600/4726240		

Análisis de Suelos y Plantas

En la fracción <2 mm de los suelos recolectados se determinó el pH en agua y en una disolución 0.1 M de KCl, con una relación suelo-disolución de 1:2.5 y con un tiempo de reacción de 10 minutos y 2 horas, respectivamente (Guitián & Carballas, 1975). El porcentaje de C_{total} y N_{total} fue medido en muestra molida en un equipo LECO CHN-1000, mientras que los valores de S_{total} fueron obtenidos en un equipo LECO SC-144DR. La capacidad de generación ácida por la oxidación de sulfuros se determinó mediante la obtención del pH de oxidación tras la actuación durante 2 y 6 horas de H_2O_2 al 15% (pH 5.5) (relación suelo (g): disolución (ml) de 1:20). Una extracción del suelo (<2 mm) en una disolución de $ClNH_4$ 1N no tamponada (Peech et al., 1947) permitió determinar los cationes de cambio (Na^+, K^+, Ca^{+2}, Mg^{+2} y Al^{+3}) en un equipo de absorción/emisión atómica Perkin-Elmer 1100B, obteniéndose en adición la CICe mediante la suma de cationes.

La concentración total de metales pesados (Mn, Zn, Pb, Cr, Co, Cu, Ni y Cd) en los suelos se determinó en un equipo de absorción/emisión atómica Perkin-Elmer 1100B tras una digestión ácida (HNO_3+HCl, 1+2) de la muestra molida en horno microondas ETHOS PLUS Milestone ATC-400, mientras que el contenido total de Hg fue obtenido directamente en un analizador Hg AMA 254. Así mismo, se obtuvo la concentración de las diferentes formas

metálicas (especiación) mediante una serie de extracciones secuenciales (BCR) siguiendo el protocolo de Rauret et al. (1999) ligeramente modificado, obteniendo 4 fracciones: a) Fracción soluble e intercambiable: extracción en agitación continua durante 16 horas con una disolución de $ClNH_4$ 1M b) Fracción ligada a carbonatos: extracción en agitación continua durante 16 horas con una disolución de CH_3COOH 0.11M c) Fracción reducible (ligada a óxidos de Fe y Mn principalmente): extracción en agitación continua durante 16 horas con una disolución de NH_2OHHCl 0.1 M ajustado a pH 2 con HNO_3 d) Fracción oxidable (ligada a materia orgánica y sulfuros): oxidación con dos alícuotas de H_2O_2 al 30% en un baño de agua a 85ºC hasta la completa evaporación de cada una de las alícuotas y posterior extracción del residuo en agitación continua durante 16 horas con una disolución de NH_4OAc 1M ajustada a pH 5 con CH_3COOH. Cada una de las fracciones se determinó en el sobrenadante derivado del centrifugado de cada extracción (3000 rpm / 10 min.) por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin-Elmer 1100B), mientras que el residuo sedimentado quedaba disponible para la siguiente extracción. Una quinta fracción, la fracción residual (ligada a estructuras cristalinas), se obtuvo mediante la diferencia entre la concentración total (HNO_3+HCl) y la suma de las fracciones anteriores. Por otra parte, se obtuvo la fracción considerada potencialmente biodisponible en el equipo de absorción/emisión atómica Perkin-Elmer 1100B tras una extracción con EDTA 0.02M, CH_3COOH 0.5M y NH_4Ac. 0.5M, ajustado a pH 4.65 (Lakanen & Ervio, 1971) y utilizando una relación suelo:disolución de 1:5 y un tiempo de extracción de 30 minutos en agitación continua.

Las hojas de las especies vegetales recolectadas en cada punto de muestreo fueron lavadas cuidadosamente y secadas en estufa a 60ºC. La muestra molida fue digerida con HNO_3+HCl en un digestor de calor para obtener el contenido en Mn, Zn, Cr, Co, Cu y Ni por espectrofotometría de absorción atómica Perkin-Elmer 1100B. El contenido en Pb y en Cd fue obtenido mediante una cámara de grafito Perkin Elmer de Absorción Atómica 4110ZL. El contenido en Hg se determinó directamente de la muestra molida mediante un analizador Hg AMA 254.

Tratamiento estadístico

Todos los análisis estadísticos realizados en el ensayo fueron llevados a cabo mediante la utilización del programa SPSS 12.0. Las posibles diferencias en las propiedades físico-químicas y el contenido y especiación de metales entre los sustratos de RM y RE, así como entre la capa superficial (0-15 cm) y subsuperficial (15-30 cm), se han analizado mediante una comparación de medias con el método de la t de student para muestras independientes ($P<0.05$). La concentración de metales en las diferentes especies vegetales muestreadas fueron comparadas mediante un análisis de varianza de un factor (ANOVA) ($P<0.05$), utilizando el test “post-hoc” Scheffe para realizar una comparación múltiple de medias. Finalmente, las relaciones entre distintos parámetros físico-químicos del suelo y la especiación de metales, así como la relación entre la acumulación de metales en plantas y el contenido biodisponible de

cada metal en el sustrato, fueron cuantificadas mediante un análisis de correlación con la comparación del coeficiente de correlación de Pearson ($P<0.05$) y un análisis de regresión de pasos sucesivos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades físico-químicas de los suelos

Los suelos analizados en el yacimiento de Rubiais muestran valores de pH en agua en el rango 6-9, obteniéndose muy frecuentemente valores entre 7-7.5 en la capa superficial (I) y entre 7-8 en la capa subsuperficial (II) (Figura 2). Los valores de pH en KCl son, de media, en torno a 0.3 unidades más bajos, siempre por encima de 4.6. Utilizando el sistema de clasificación de la U.S.D.A. (2005) de pH en agua, y considerando la capa más superficial del sustrato, la mayor parte de los suelos analizados, el 43.6%, pueden considerarse neutros (pH 6.6-7.3). Sin embargo, a lo largo del yacimiento están representados también suelos ligeramente ácidos (pH 6.1-6.5) (20.5%), ligeramente alcalinos (pH 7.4-7.8) (15.4%), moderadamente alcalinos (pH 7.9-8.4) (7.7%) y fuertemente alcalinos (pH 8.5-9.0) (12.8%). Considerando la capa subsuperficial del sustrato, el grupo más representativo es el de suelos ligeramente alcalinos (pH 7.4-7.8), con un 37.1% de los suelos muestreados. El 11.4% de los suelos se muestran ligeramente ácidos (pH 6.1-6.5), el 25.7% como suelos neutros (pH 6.6-7.3), un 8.6% como moderadamente alcalinos (pH 7.9-8.4) y un 14.3% como fuertemente alcalinos (pH 8.5-9.0). No existen diferencias significativas ($P<0.05$) en cuanto al pH entre RE y RM, aunque en esta última zona, y principalmente en la capa subsuperficial, los valores tienden a ser ligeramente inferiores, más próximos a la neutralidad. El vertido sobre RE de lodos derivados del proceso de flotación, en donde se emplean distintos reactivos, como por ejemplo NaOH, podrían justificar este ligero incremento de pH en esta zona. Considerando los valores de pH_{KCl}, se encuentran de nuevo en torno a la neutralidad en las capas superficiales y ligeramente alcalinos en las subsuperficiales, lo que indica la ausencia de aluminio disponible en el complejo de cambio de los suelos.

En la figura 3 se representa la CICe y la distribución de los cationes en el complejo de cambio en las zonas estudiadas, considerando las dos profundidades muestreadas. En general, los suelos presentan una baja CICe, con una media en la capa superficial de 8.4 cmol(+) kg^{-1} y en la capa subsuperficial de 11.5 cmol(+) kg^{-1}. Aunque existe una tendencia clara en la capa subsuperficial de presentar mayores valores de CICe, las diferencias encontradas entre profundidades no son estadísticamente significativas ($P<0.05$). El intervalo de variación en ambos casos es bastante amplio, con valores entre 1.5 y 27.8 cmol(+) kg^{-1} en la capa superficial y entre 1.6 y 24.9 cmol(+) kg^{-1} en la subsuperficial. No obstante, el 60.8% de los suelos analizados presentan una CICe < 10 cmol(+) kg^{-1}, que es considerado un valor bajo y representa una escasa capacidad de retención de cationes (Alarcón-Vera, 2004), y casi el 88% de las muestras están por debajo de 20 cmol(+) kg^{-1}, valor medio en suelos sobre rocas calizas en Galicia (Taboada & Silva, 1999). La “Soil Fertility Capability Clasification” (Buol, 1975)

propone un valor crítico de la CIC de 4 cmol(+) kg^{-1} (factor e), por debajo del cual se presentan graves problemas en el desarrollo del suelo y sus funciones. En torno al 30% de las muestras analizadas en el yacimiento presentan valores inferiores a 4 cmol(+) kg^{-1}, lo que representa una escasa retención de cationes y una fuerte limitación para el desarrollo vegetal en el área de estudio. Existen, no obstante, diferencias significativas ($P<0.05$) en la CICe entre RE y RM, de manera que esta última zona presenta valores de CICe superiores, con una media de 14.3 cmol(+) kg^{-1} frente a los 8.8 cmol(+) kg^{-1} que presentan como media los suelos en RE.

El complejo de cambio se encuentra dominado en todos los casos por cationes básicos (Figura 3), tal y como podría deducirse de los valores de pH y pH_{KCl} obtenidos. Por ello, en 69 de las 74 muestras analizadas, el Al^{+3} se encuentra por debajo del límite de detección (<0.26 cmol(+) kg^{-1}). El Ca^{+2} es el catión claramente dominante, con unos valores medios de 5.4 cmol(+) kg^{-1} para las capas superficiales y 8.6 cmol(+) kg^{-1} para las capas subsuperficiales, con un rango que oscila entre 0.3 y 25.8 cmol(+) kg^{-1} (Figura 3). Únicamente un 8% de las muestras analizadas presentan valores inferiores a 1.5 cmol(+) kg^{-1}, valor considerado límite inferior por la Soil Fertility Capability Clasification (Buol, 1975) (factor Ca1), por debajo del cual existen problemas de deficiencia de Ca. Sin duda, el aporte de Ca^{+2} por el material geológico de partida impide generalmente una disminución crítica de este catión en el complejo de cambio. El Mg^{+2} oscila en la capa superficial entre 0.2 y 2.8 cmol(+) kg^{-1}, con un valor medio de 0.5 cmol(+) kg^{-1}, mientras que la capa subsuperficial muestra valores en Mg^{+2} de cambio ligeramente superiores, con un rango entre 0.3 y 3.1 cmol(+) kg^{-1} y una media de 0.9. Únicamente el 10% de las muestras analizadas muestran valores inferiores a los 0.4 cmol(+) kg^{-1} (factor Mg1) propuesto por la Soil Fertility Capability Clasification (Buol, 1975) como valor crítico. Coppin & Bradshaw (1982), por su parte, especifican un valor crítico de 0.16 cmol(+) kg^{-1} en suelos de mina, por debajo del cuál se presenta una deficiencia severa de este elemento. En el yacimiento de Rubiais se supera en todos los casos este valor de Mg^{+2}. La relación Ca^{+2}/Mg^{+2} en los suelos analizados generalmente no muestran desequilibrios importantes a favor de ninguno de los dos cationes, de manera que no existen problemas de competencia en la asimilación de alguno de ellos por las plantas. El rango de variación, no obstante, es muy amplio, encontrándose valores de Ca^{+2}/Mg^{+2} entre 0.75 y 45, aunque casi en el 70% de las muestras analizadas se encuentra en el rango entre 1 y 10. Menos del 5% de las muestras presentan relaciones Ca/Mg < 1, y en torno a un 12% presentan valores >20. El K^{+} oscila entre 0.03 y 0.3 cmol(+) kg^{-1} en las capas superficiales y entre 0.02 y 0.15 cmol(+) kg^{-1} en las capas subsuperficiales, valores sensiblemente inferiores a los encontrados en suelos desarrollados sobre calizas de Galicia, con valores medios de 0.26 cmol(+) kg^{-1} (Taboada & Silva, 1999). En base al criterio de la Soil Fertility Capability Clasification (Buol, 1975) y otros autores (Coppin & Bradshaw, 1982; Sanchez et al., 1982), que consideran 0.2 cmol(+) kg^{-1} como un valor crítico, prácticamente la totalidad de las muestras analizadas, 73 de las 74,

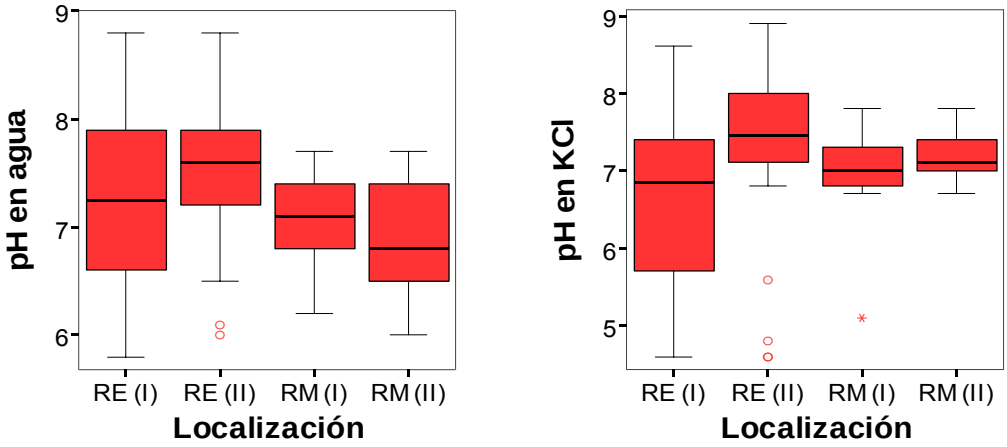

*Figura 2.- Mediana y rangos intercuartílicos en donde se engloban el 50% (cajas) y el 95% (bigotes) de las muestras para el pH en agua y en KCl, por zona de muestreo y profundidad. (o - datos atípicos / * - datos extremos).*

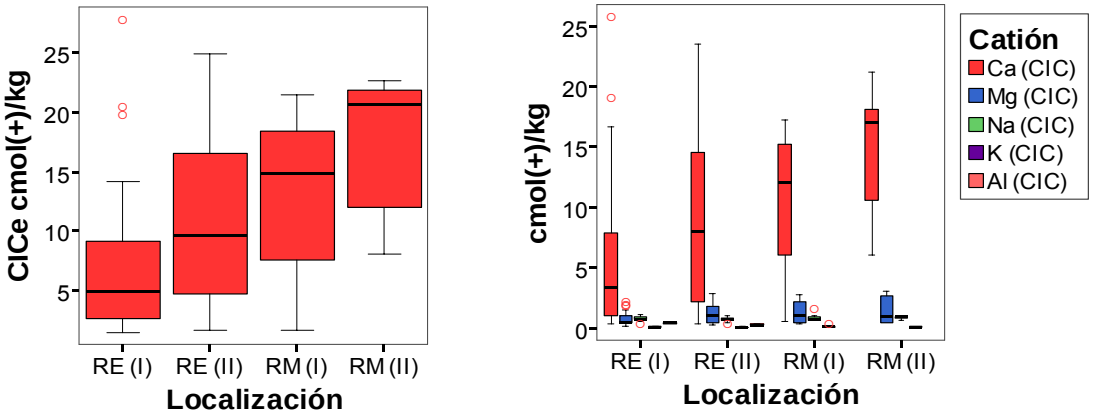

*Figura 3.- Mediana y rangos intercuartílicos en donde se engloban el 50% (cajas) y el 95% (bigotes) de las muestras para la CICe y para los cationes de cambio, por zona de muestreo y profundidad. (o - datos atípicos / * - datos extremos).*

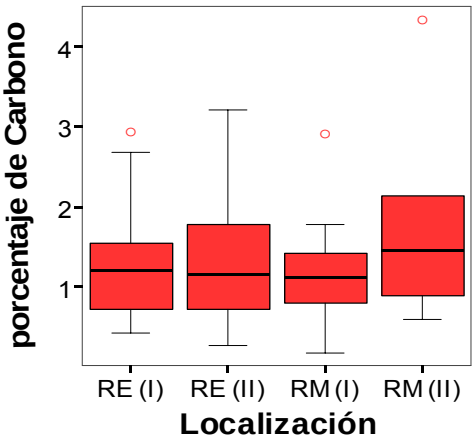

*Figura 4.- Mediana y rangos intercuartílicos en donde se engloban el 50% (cajas) y el 95% (bigotes) de las muestras para el contenido en C, por zona de muestreo y profundidad. (o - datos atípicos / * - datos extremos).*

presentan un déficit de K^+ (factor K1). En adición, más del 70% de las muestras presentan menos de un 2% de K^+ en relación al total de las bases de cambio, por lo que existe un desequilibrio de K y se presentan limitaciones en su disponibilidad. Finalmente, el Na^+ no se considera un elemento esencial para la nutrición vegetal, y en gran medida se utiliza para diagnosticar el grado de salinidad de un suelo. El exceso de Na^+ en el complejo de cambio provoca en este caso efectos adversos en el desarrollo de la vegetación, debido a la competitividad con otros elementos nutritivos y metales pesados y a la desestabilización de la estructura del suelo. En el yacimiento de Rubiais, los suelos muestran un contenido en Na^+ que oscila entre 0.3 y 1.6 cmol(+) kg^{-1} en las capas superficiales y de 0.3 a 1.1 cmol(+) kg^{-1} en las capas subsuperficiales. Menos de un 10% de las muestras analizadas superan el factor n de la Soil Fertility Capability Clasification (Buol, 1975), que propone un valor crítico del 15% de Na^+ en el complejo de cambio por encima del cual se presentan los problemas comentados. Cobertera Laguna (1993) clasifica a los suelos según su contenido en Na^+ en "Suelos normales" (<1 cmol(+) kg^{-1} de Na^+), "Suelos algo salinos" (1-3 cmol(+) kg^{-1} de Na^+), "Suelos salinos" (3-5 cmol(+) kg^{-1} de Na^+) y "Suelos salino-alcalinos" (>5 cmol(+) kg^{-1}). Según esta clasificación, los suelos del yacimiento de Rubiais se muestran generalmente como "Suelos normales" y con muy poca frecuencia (8%) como "Suelos algo salinos".

Por otra parte, existe un déficit o ausencia general de materia orgánica en los suelos del yacimiento, con porcentajes de C total que oscilan entre 0-4.5 % pero muy frecuentemente entre 0.5 y 1.5 % (Figura 4) y con porcentajes de N inferiores al límite de detección (<0.05%) en la gran mayoría de los casos analizados. Este hecho es común en escombreras de mina (Pichtel et al., 1994; Shu, 1997, Ye et al, 2002) y en otros yacimientos mineros estudiados en Galicia (Monterroso et al., 1995; Quintas, 1997; Leiros et al., 1989; Alvarez et al., 2003). En este caso, además, y de acuerdo con el pH del suelo y la mineralogía original, gran parte del C obtenido debe poseer un origen inorgánico en forma de carbonatos. De hecho, entre pH y %C se encuentra un coeficiente de correlación de Pearson de 0.7, significativo a un nivel de 0.01, lo que apoya esta idea de que la mayor parte del %C obtenido es de origen inorgánico. El escaso N existente en los suelos del yacimiento, que sólo se detecta en los puntos RE3, RE9, RE10, RE15,RE16, RE19, RE23, RE27, RE28, RE29, RM1, RM5 y RM6 con valores siempre por debajo de 0.1%, supone además otra gran limitación para la actividad biológica y el desarrollo vegetal. Considerando el valor del N en aquellos puntos en donde no se detectó como la mitad del límite de detección (0.05%), las relaciones C:N presentes en los suelos del yacimiento muestran valores muy heterogéneos (7.6-173), aunque las medias existentes pueden catalogarse de muy elevadas, con valores en torno a 50. La elevada concentración de C frente a la de N y la inexistencia de una correlación significativa ($P<0.05$) entre C y N (para las muestran en donde el N fue detectado) ratifica nuevamente que la mayor parte del C es de origen inorgánico. No se encontraron diferencias significativas ($P<0.05$) en cuanto al contenido en C y N en función de la zona y la profundidad de la toma de muestra. El bajo contenido en materia orgánica de los suelos del yacimiento de Rubiais, además de influir en la CIC, puede

resultar un factor clave en la retención de metales pesados como el Zn y el Pb, ya que la materia orgánica puede actuar como un fuerte complejante, impidiendo su solubilización y movilización a corto plazo. A su vez, un mayor contenido en materia orgánica podría jugar un papel fundamental en la recuperación de suelos degradados aportando estructura y nutrientes para la vegetación, y facilitando la recuperación de los ciclos biogeoquímicos.

El contenido en S_{Total} en los suelos del yacimiento es inferior a 0.05% (500 mg kg^{-1}) en la gran mayoría de los casos, valores muy similares a los encontrados en suelos naturales sin sulfuros (Merino et al., 1989). No obstante, de manera puntual, se han encontrado valores de S superiores en los puntos RE1, RE13, RM5, RM7 y RM9, con contenidos en S_{Total} de 0.3, 0.63, 0.61, 0.46 y 1.09 %, respectivamente. La existencia de acumulaciones de finos de trituración y molienda provenientes del proceso de beneficiación de los minerales extraídos, constituidos principalmente por blenda y galena, pero también por pirita, calcopirita y pirrotina como accesorios, podrían explicar este hecho. Los pH_{ox} obtenidos en estos puntos presentan valores entre 5.6 y 6.4, lo que muestra una elevada capacidad de neutralización y mecanismos tampón de los suelos del yacimiento frente a la acidificación por la oxidación de sulfuros, fundamentalmente debido a la presencia de carbonatos. El escaso contenido en S_{Total} y la elevada capacidad de amortiguación de los suelos a variaciones de pH suponen una baja probabilidad en el yacimiento de que se produzcan drenajes ácidos de mina por oxidación de sulfuros.

Contenido, especiación y biodisponibilidad de metales en los suelos

La distribución de la concentración total de metales pesados en los suelos analizados del yacimiento de Rubiais y su mediana en función de la zona (RE/RM) y profundidad (I/II) se representa en la figura 5.

Los metales que muestran mayores concentraciones en el área son el Zn y el Pb, tal y como se podría esperar al ser éstos los metales beneficiados en el yacimiento. La concentración de Zn supera en todos los puntos de muestreo los límites establecidos en el R.D 1310/1990 (B.O.E nº 262, 1990) (Tabla 2), mientras que en el caso del Pb se superan en un 78% de las muestras. Distintos autores (Tietjen, 1975; Kabata-Pendias & Pendias, 1984; Ross, 1994; Alloway, 1995), a pesar de la presumiblemente escasa significación biológica que supone la concentración total, indican además algunos límites de fitotoxicidad de referencia (Tabla 2). En este sentido, el 100% y entre el 74 y 81% de las muestras de suelo recogidas a lo largo del yacimiento superan los límites de fitotoxicidad para el Zn y el Pb, respectivamente.

Metales muy tóxicos como el Cd y el Hg presentan, principalmente en la capa subsuperficial, concentraciones totales que son también relativamente elevadas. La particular mineralogía del yacimiento, donde podían encontrarse tipos de blenda con concentraciones de

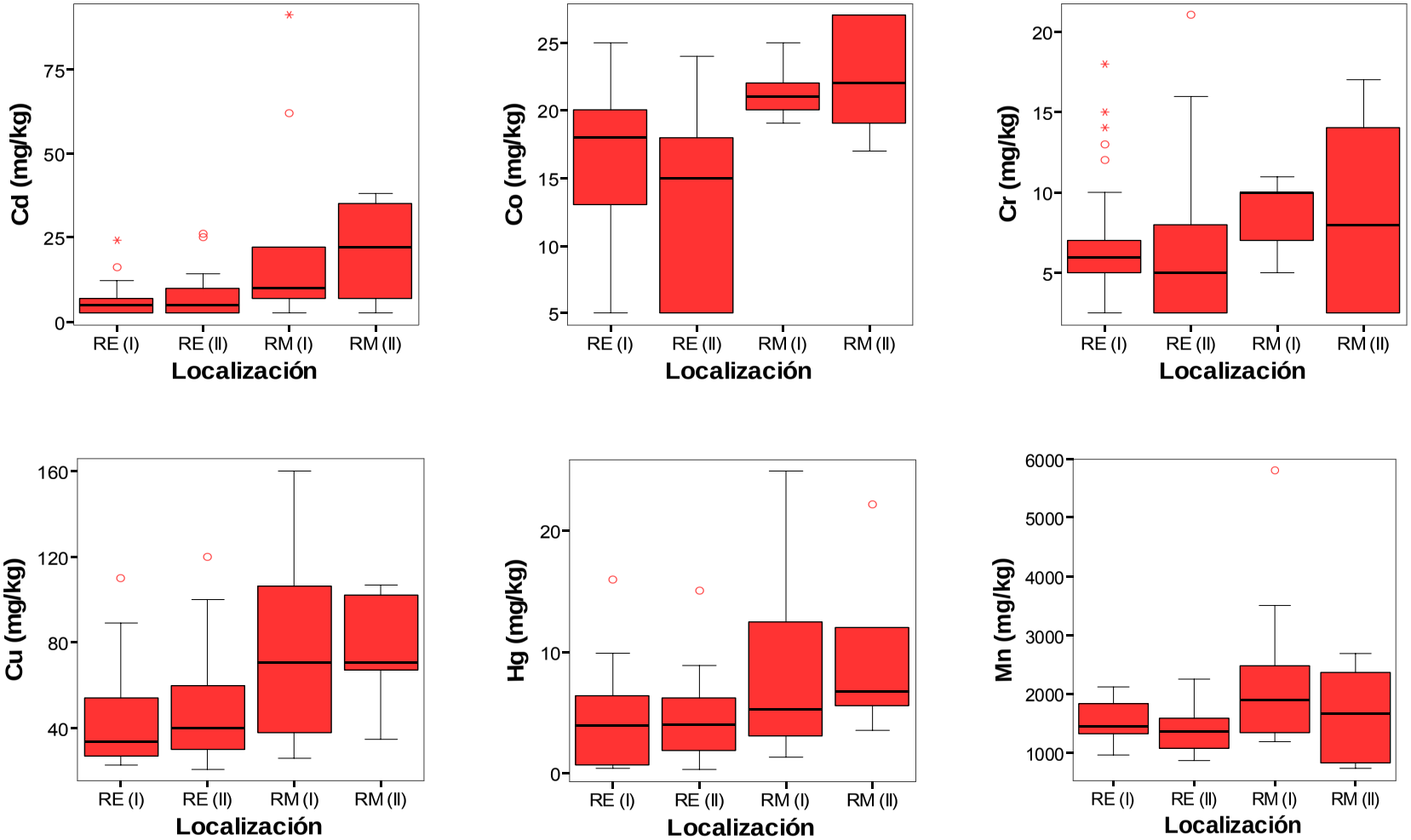

Figura 5.- Mediana y rangos intercuartílicos en donde se engloban el 50% (cajas) y el 95% (bigotes) de las muestras para la concentración total de metales pesados, por zona de muestreo y profundidad. (o - datos atípicos / * - datos extremos).

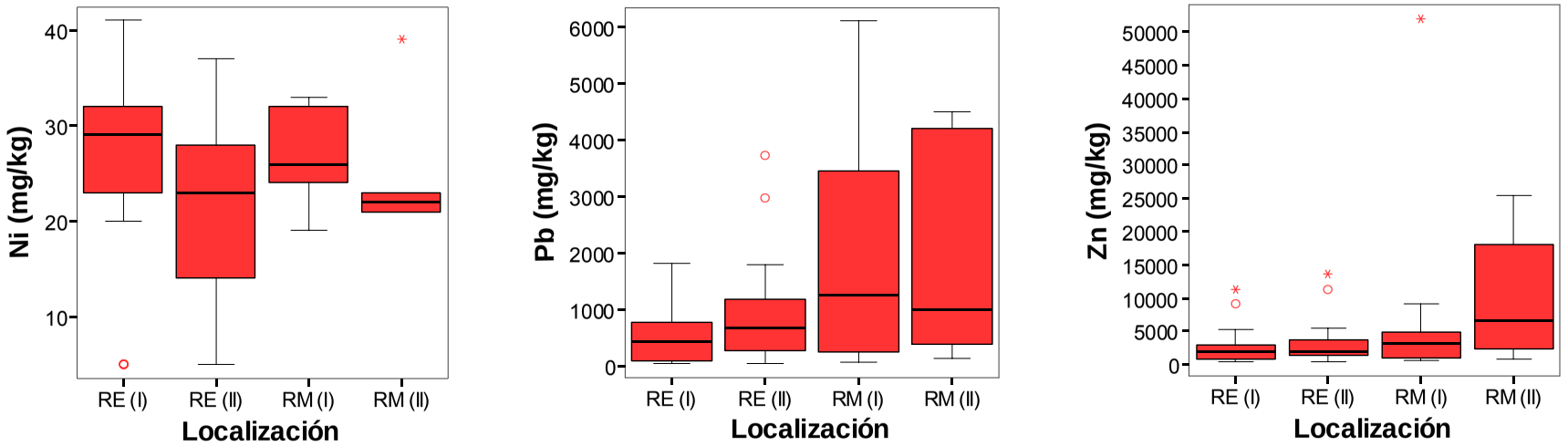

Figura 5 (Cont.).- Mediana y rangos intercuartílicos en donde se engloban el 50% (cajas) y el 95% (bigotes) de las muestras para la concentración total de metales pesados, por zona de muestreo y profundidad. (o - datos atípicos / * - datos extremos).

Tabla 2.- Valor límite de concentración de metales pesados en suelos agrícolas que pueden ser enmendados con lodos de depuradora (mg kg^{-1} de materia seca de una muestra representativa de los suelos) – R.D 1310/1990 (B.O.E. nº 262, 1990) y límites de Fitotoxicidad (Tietjen, 1975; Kabata-Pendias & Pendias, 1984)

Metales	Valores límite: Suelos con pH<7	Valores límite: Suelos con pH>7	Límite de Fitotoxicidad
Cadmio	1	3	5
Cobre	50	210	100
Níquel	30	112	100
Plomo	50	300	100-200
Zinc	150	450	300
Mercurio	1	1.5	5
Cromo	100	150	100

Cd superiores a 1500 mg kg^{-1} (Arias Prieto, 1991), justifica las elevadas concentraciones de Cd encontradas en los suelos. Estas concentraciones superan los límites establecidos en el R.D 1310/1990 (B.O.E nº 262, 1990) (Tabla 2) en un 81 % de las muestras del yacimiento analizadas, mientras que en el caso del Hg este hecho sucede en un 67% de las muestras. Los límites de fitotoxicidad establecidos por Kabata-Pendias & Pendias, 1984 y Tietjen, 1975 se superan en un 46% y un 39% de los casos para el Cd y el Hg, respectivamente.

Cu y Ni muestran valores puntualmente elevados, aunque comparativamente menores que los metales anteriormente citados. En estos casos únicamente se superan los límites establecidos por el R.D 1310/1990 (B.O.E nº 262, 1990) (Tabla 2) en un 6.7% y un 16.2%, respectivamente. El límite de fitotoxicidad sólo es superado en el caso del Cu en un 9% de los casos, mientras que el Ni no supera los umbrales de referencia considerados en ningún caso.

Las concentraciones de Co y Cr, contrariamente, no se pueden considerar elevadas en ninguno de los suelos del yacimiento. Marschner (1995) propuso como valores límites de fitotoxicidad 50 y 100 mg kg^{-1} de Co y Cr, respectivamente, y en ningún caso se superan estos valores. En el caso del Cr, en adición, la concentración se mantiene muy por debajo de los límites establecidos por el R.D 1310/1990 (B.O.E nº 262, 1990) y los límites de fitotoxicidad establecidos por Kabata-Pendias & Pendias (1984) y Tietjen (1975) (Tabla 2).

Por último, cabe comentar que el Mn es un elemento muy abundante en la superficie de la tierra, por lo que se ha desarrollado en el medio natural una gran tolerancia al mismo y no se considera un metal excesivamente tóxico. No obstante, Kabata-Pendias & Pendias (1984) propone la existencia de fitotoxicidad y efectos desequilibrantes en el suelo a partir de 1500 mg kg^{-1}. Este umbral se supera en un 46% de las muestras analizadas a lo largo del yacimiento.

Las asociaciones de metales pesados con menas de Zn son comunes, y de ahí el alto contenido general de metales a lo largo del yacimiento. Los minerales de Zn, Pb y Cd aparecen

normalmente juntos dado su similar comportamiento químico, tendiendo a combinarse con sulfuros como minerales primarios (Skinner, 1976). Otros metales pesados encontrados como impurezas comunes en menas de Zn son Mn, Hg, Ge, Ag en esfalerita; Fe, Co, Cu y Mn en esmithsonita y Mn y Fe en Cincita (Alloway, 1995; Buanuam et al., 2005). Debido a estas asociaciones, en el área de estudio se han encontrado correlaciones fuertemente significativas ($P<0.01$) entre Zn, Pb, Cd y Hg. En adición, se han encontrado también correlaciones significativas ($P<0.01$) entre Cr, Ni y Co, lo que muestra igualmente asociaciones de estos elementos en otros minerales primarios menos comunes.

La distribución de metales dentro del yacimiento es heterogénea, existiendo una amplia variabilidad de concentraciones (Figura 5). Aunque no se encuentran diferencias significativas ($P<0.05$) en cuanto a la concentración de metales entre las diferentes profundidades analizadas (I y II), sí existen concentraciones significativamente mayores ($P<0.05$) de Cu, Pb, Co, Cd y Hg en RM frente a RE. En el caso del Zn y el Mn, aunque se han encontrado valores máximos en RM de 52000 y 5800 mg kg^{-1}, respectivamente, no se obtienen diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$) frente a RE debido a la amplia variabilidad y heterogeneidad de los resultados encontrados. La mayor concentración de los principales metales pesados en RM se puede justificar dado que era la zona en donde se producía la beneficiación del mineral, y en ella se encuentran fundamentalmente, y de manera heterogénea, restos de minerales triturados y finos de molienda con elevadas concentraciones de metales provenientes de la roca original.

La tabla 3 muestra el fraccionamiento de metales en la fase sólida del suelo en cada una de las zonas de mina (RE/RM), a diferente profundidad (I/II), en un grupo representativo de muestras seleccionadas. No se presenta la especiación de Cr y Ni, con valores por debajo del límite de detección en la mayoría de las fracciones. En el caso del Ni, únicamente se puede comentar que presenta una importante fracción unida a carbonatos y óxidos de Fe y Mn, en donde se concentran los valores detectables, con concentraciones de hasta 3.2 y 6.4 mg kg^{-1} respectivamente.

De los metales que presentan un mayor nivel de contaminación en el yacimiento, el Zn se encuentra generalmente en la fracción residual (cristalina), con un porcentaje medio dentro de las muestras seleccionadas del 45% y valores máximos que pueden llegar hasta el 91%. No obstante, existen algunos puntos de muestreo, principalmente RE5-II, RE7-I, RE7-II, RE15-II, RM1-II y RM7-I, donde la fracción residual es <10% y la suma de las fracciones unidas a carbonatos y a sulfuros (blenda) llega a ser la más importante (>50%). La fracción soluble e intercambiable no muestra porcentajes elevados (<5.4%), y en cmol(+) kg^{-1} representa menos de un 3% de la CICe obtenida de la suma de bases, por lo que no existe un desplazamiento importante de las bases por el Zn^{+2} existente. A pesar de ello, los valores absolutos asociados a esta fracción soluble/intercambiable pueden llegar a ser importantes desde un punto de vista

ambiental. De hecho, en todos los casos se superan los 0.5 mg kg^{-1} propuesto por Ewers (1991) como máximo tolerable.

El Pb no presenta una fracción claramente dominante, aunque la tendencia es a que se acumule mayoritariamente en las fracciones unidas a sulfuros (media de 32% y máximos de hasta 69%) y carbonatos (media de 26% y máximos de hasta 71%). Este hecho es fácilmente explicable al tratarse de un yacimiento de beneficiación de galena (PbS) en un entorno calizo. La fracción ligada a sulfuros adquiere quizás una mayor relevancia en RM, debido a la acumulación de estériles y finos de trituración del proceso de beneficiación. El $PbCO_3$, insoluble a estos niveles de pH, y la fracción ligada a óxidos de Fe y Mn tienden a ser dominantes, sin embargo, en la capa subsuperficial, fundamentalmente en RE. En adición, en algunos de los puntos de muestreo, principalmente de esta zona, la fracción residual llega a ser importante (>25%), debido probablemente a la acumulación de estériles desechados en el aprovechamiento del Pb y el Zn. La fracción soluble e intercambiable presenta siempre porcentajes bajos, con valores <7% y usualmente <2%. Sin embargo, en términos absolutos se sobrepasa el valor de 1 mg kg^{-1} propuesto como valor máximo admisible por Ewers (1991) en casi un 62% de las muestras analizadas. Algunos puntos de muestreo superan ampliamente este valor de referencia (en más de 10 veces), con concentraciones de 14 (RE5-II), 22 (RE3-II), 25 (RE13-II), 47 (RM7-I), 64 (RM7-I), 88 (RM9), y hasta 218 mg kg^{-1} (RE10-II). Esto supone una elevada biodisponibilidad y un elevado riesgo ambiental de movilización de Pb en determinados puntos dentro del yacimiento.

El Cd presenta igualmente una especiación heterogénea a lo largo del yacimiento, pero en este caso con porcentajes más importantes de la fracción soluble e intercambiable (media de 10% y porcentajes máximos de hasta el 51%). Estos datos implican la existencia de un elevado riesgo de movilización de Cd hacia la vegetación y hacia las aguas superficiales y subterráneas. En términos absolutos, las concentraciones de Cd en la fracción soluble e intercambiable son superiores en un 80% de los casos a 0.03 mg kg^{-1}, valor de referencia marcado por Ewers (1991), y el 50% de las muestras analizadas muestra valores superiores a 1 mg kg^{-1}. En adición, la fracción ligada a carbonatos presenta también porcentajes importantes (media de 23% y porcentajes máximos de 57%).

Metales como el Cu y el Co se presentan principalmente en la fracción residual (con porcentajes máximos de hasta el 89 y 62%, respectivamente), permaneciendo, en principio, fuertemente retenidos en el suelo. La fracción oxidable presenta en algunos puntos del yacimiento porcentajes importantes de hasta el 56% para Cu (debido a la existencia de calcopirita) y del 43% para Co. También alcanza porcentajes importantes la fracción ligada a carbonatos, principalmente en los horizontes subsuperficiales de RE, con valores de hasta el

Tabla 3.- Estadísticos descriptivos de la especiación de metales pesados (valores absolutos en mg kg^{-1} y porcentaje de la concentración total) en un grupo representativo de muestras seleccionadas dentro de cada zona y profundidad en el yacimiento de Rubiais (n=34). No se incluyen Cr y Ni al presentar valores habitualmente por debajo del límite de detección. La presencia de este tipo de valores en algunas fracciones de metales (*) se resuelve en cada caso considerando la mitad del valor límite detectable.

	RE (I)			RE (II)		
	rango	media	mediana	rango	media	mediana
Fracción soluble/intercambiable						
Cd	0 - 2.4 (0 - 27%)	0.7 (8.9%)	0.5 (8.8%)	0 - 2.8 (0 – 51%)	0.9 (13%)	0.9 (11%)
Co	0.2 - 1.4 (1 - 16%)	0.7 (5%)	0.7 (3.5%)	0.2 - 1.2 (1.7 – 16%)	0.6 (6.1%)	0.6 (4.9%)
Cu	0 - 1.6 (0 - 2.7%)	0.4 (0.8%)	0.2 (0.7%)	0 - 4.8 (0 – 4%)	0.8 (1.3%)	0.4 (0.9%)
Mn	0.4 - 54 (0 - 5.1%)	22.6 (1.7%)	15.1 (1%)	0.2 - 14.8 (0 - 1.3%)	8.2 (0.6%)	8.4 (0.7%)
Pb	0.6 - 8.8 (0.3 - 2.2%)	2.9 (0.9%)	1.9 (0.6%)	0.2 - 218 (0 - 7.3%)	19.1 (1%)	2.6 (0.5%)
Zn	2 – 290 (0.2 - 4.4%)	70.6 (1.7%)	21.2 (1.2%)	3.4 – 210 (0.2 - 5.4%)	77.2 (2.3%)	52.2 (1.8%)
Fracción ligada a carbonatos						
Cd	0.1 - 4.6 (4 – 37%)	1.4 (20%)	1.3 (20%)	0.3 - 4.2 (6 – 57%)	1.8 (28%)	1.5 (29%)
Co	0 - 3.8 (0 – 45%)	1.6 (14%)	1 (10%)	0 - 3.8 (0 – 44%)	2.2 (22%)	2.3 (18%)
Cu	0.5 - 30.6 (2.2 – 38%)	6.3 (12%)	2.1 (8.2%)	1.4 – 44 (4.2 – 51%)	13.2 (25%)	10.1 (24%)
Mn	62 – 626 (4.2 – 43%)	346 (25%)	413 (26%)	156 – 587 (13 – 55%)	412 (31%)	460 (30%)
Pb	3.8 – 741 (3.5 – 62%)	167 (21%)	50.2 (9.3%)	19.6 – 2132 (5.2 – 71%)	408 (33%)	229 (31%)
Zn	19.8 – 2210 (2.2 – 40%)	693 (19%)	529 (22%)	195 – 2012 (11 – 59%)	826 (30%)	902 (30%)
Fracción reducible (Ox. Fe y Mn)						
*Cd	0.5 - 1.4 (2.1 – 28%)	0.6 (14%)	0.5 (15%)	0.5 - 1.2 (1.9 – 24%)	0.6 (12%)	0.5 (10%)
Co	0.5 - 8.6 (8.6 – 42%)	4.8 (26%)	5.5 (28%)	0.5 - 7.6 (8.3 – 35%)	2.9 (19%)	1.8 (20%)
Cu	0.5 - 3.2 (1.5 – 12%)	1.5 (4.5%)	1.4 (2.8%)	0.5 - 11.6 (1 – 22%)	3.1 (6.1%)	1.1 (3.3%)
Mn	186 – 1440 (16 – 73%)	732 (49%)	680 (54%)	138 – 1520 (16 – 78%)	581 (38%)	387 (30%)
Pb	16 – 92 (2.5 – 61%)	50 (25%)	43 (18%)	33 – 203 (0.9 – 63%)	91.6 (18%)	87.5 (9.3%)
Zn	12 – 480 (1.3 – 16%)	165 (5.7%)	144 (4.7%)	54 – 440 (1.5 – 17%)	209 (8%)	177 (6.7%)
Fracción oxidable (M.O/sulfuros)						
*Cd	0.6 - 3.3 (10 – 30%)	1.3 (21%)	0.6 (25%)	0.6 - 4.8 (4.4 – 40%)	1.2 (18%)	0.6 (16%)
*Co	1.3 - 2.5 (5.7 – 43%)	1.4 (12%)	1.3 (6.8%)	1.3 - 2.5 (5.2 – 25%)	1.3 (13%)	1.3 (10%)
Cu	1.3 – 20 (4.9 – 33%)	7 (17%)	4.6 (16%)	3.5 - 23.5 (6.6 – 56%)	10.2 (23%)	8.7 (20%)
Mn	85 – 240 (8 – 22%)	190 (14%)	204 (13%)	72.5 – 310 (5.7 – 27%)	188 (15%)	195 (14%)
Pb	14 – 358 (21 – 65%)	142 (37%)	165 (35%)	30 – 930 (11 – 47%)	219 (25%)	177 (21%)
Zn	33 – 1750 (3.7 – 43%)	597 (18%)	481 (16%)	38 – 2125 (4.2 – 45%)	587 (17%)	406 (16%)
Fracción residual						
Cd	0.1 - 13.3 (2 – 55%)	2.9 (36%)	1 (35%)	0 – 17 (0 – 69%)	3.2 (28%)	1.4 (34%)
Co	0 - 11.6 (0 – 56%)	8 (43%)	9.4 (50%)	0 – 14 (0 – 60%)	6 (39%)	7.3 (47%)
Cu	17 - 32.2 (35 – 87%)	22.2 (66%)	20.2 (70%)	4.9 – 60 (12 – 81%)	21 (45%)	17.6 (44%)
Mn	28 – 307 (1.9 – 26%)	137 (10%)	130 (9.5%)	38 – 606 (2.4 – 38)	193 (15%)	128 (9.9%)
Pb	0 – 560 (0 – 59%)	146 (15%)	20.5 (6%)	4 – 1407 (0.6 – 56%)	274 (23%)	121 (18%)
Zn	54 – 6786 (2.3 – 91%)	1515 (55%)	811 (56%)	150 – 7407 (7.9 – 76%)	1482 (43%)	921 (47%)

Tabla 3 (Cont.).- Estadísticos descriptivos de la especiación de metales pesados (valores absolutos en mg kg^{-1} y porcentaje de la concentración total) en un grupo representativo de muestras seleccionadas dentro de cada zona y profundidad en el yacimiento de Rubiais (n=34). No se incluyen Cr y Ni al presentar valores habitualmente por debajo del límite de detección. La presencia de este tipo de valores en algunas fracciones de metales (*) se resuelve en cada caso considerando la mitad del valor límite detectable.

	RM (I)			RM (II)		
	rango	media	mediana	rango	media	mediana
Fracción soluble/intercambiable						
Cd	0 - 3.6 (0 – 13%)	1.4 (6.1%)	0.4 (5.7%)	0 – 2 (0 - 5.7%)	0.8 (3.8%)	0.4 (5.7%)
Co	0.2 - 0.4 (0.8 – 2%)	0.2 (1.1%)	0.2 (1%)	0.2 - 0.4 (0.7 - 2.1%)	0.3 (1.4%)	0.4 (1.5%)
Cu	0.2 - 0.4 (0.3 - 0.8%)	0.3 (0.5%)	0.4 (0.5%)	0.2 - 0.6 (0.2 - 0.6%)	0.3 (0.4%)	0.2 (0.6%)
Mn	2.2 - 22.6 (0.2 - 0.6%)	8.6 (0.3%)	5.0 (0.2%)	3.2 – 10 (0.1 - 0.4%)	5.7 (0.3%)	3.8 (0.2%)
Pb	0.4 - 88.4 (0.1 - 1.6%)	30.8 (0.9%)	1 (1.3%)	0.4 - 47.2 (0.2 - 1.1%)	16.1 (0.6%)	0.6 (0.4%)
Zn	4.6 – 290 (0.5 - 3.2%)	124 (1.6%)	23.8 (0.7%)	2.8 - 24.2 (0.1 - 1.1%)	15.9 (0.5%)	20.6 (0.3%)
Fracción ligada a carbonatos						
Cd	0.3 - 8.4 (0.8 – 32%)	3.7 (17%)	2.2 (12%)	0.5 - 5.2 (15 – 29%)	2.6 (21%)	2 (20%)
Co	0.3 – 2 (1.2 – 10%)	1 (4.8%)	0.8 (4.2%)	0.3 - 2.2 (1.1 - 8.1%)	1 (4.1%)	0.6 (3.2%)
Cu	0.3 - 10.6 (1.2 - 6.6%)	3.4 (3.1%)	2.2 (2.5%)	0.8 - 9.8 (2.3 - 9.6%)	4.8 (5.1%)	3.8 (3.6%)
Mn	25.4 – 325 (0.4 – 13 %)	156 (7.7%)	103 (6.6%)	86.2 – 423 (5.2 – 16%)	272 (11%)	308 (13%)
Pb	4 – 1816 (3.7 – 45%)	670 (17%)	18.4 (5.3%)	4.6 – 1543 (4.1 – 37%)	521 (15%)	15.4 (4.6%)
Zn	80.2 – 4216 (8.1 – 32%)	1648 (19%)	876 (17%)	129 – 3979 (14 – 42%)	1695 (26%)	976 (22%)
Fracción reducible (Ox. Fe y Mn)						
*Cd	0.5 - 2.8 (0.8 – 26%)	1.6 (12%)	1.8 (10%)	0.5 – 2 (5.7 – 29%)	1.5 (18%)	2 (20%)
Co	2.8 - 8.4 (12 – 38%)	6.6 (31%)	7.2 (34%)	6 - 8.4 (22 – 43%)	7.5 (32%)	8.2 (31%)
Cu	0.5 – 3 (0.7 - 6.9%)	1.8 (2.9%)	1.8 (2.3%)	0.5 - 3.4 (0.5 - 5.7%)	2 (3.1%)	2 (3.2%)
Mn	558 – 2860 (42 – 78%)	1560 (61%)	1400 (66%)	1080 – 1780 (60 – 66%)	1427 (64%)	1420 (65%)
Pb	53 – 1012 (10 – 70%)	379 (31%)	131 (25%)	47 – 1000 (17 – 47%)	370 (29%)	64 (24%)
Zn	60 – 1100 (2.1 – 16%)	564 (11%)	520 (11%)	100 – 980 (5.4 – 18%)	500 (12%)	420 (11%)
Fracción oxidable (M.O/sulfuros)						
*Cd	0.6 - 32.5 (1 – 42%)	8.8 (24%)	1.3 (25%)	0.6 – 13 (8.9 – 37%)	4.7 (24%)	0.6 (25%)
*Co	1.3 - 4.5 (5 – 20%)	1.9 (8.7%)	1.3 (6.3%)	1.3 – 3 (4.6 – 11%)	1.8 (7.4%)	1.3 (6.6%)
Cu	0.6 - 27.3 (2.4 – 33%)	16.9 (19%)	23.8 (21%)	5.8 - 25.8 (17 – 24)	18.2 (21%)	23 (22%)
Mn	142 – 247 (4.3 – 13%)	189 (8.7%)	177 (8.6%)	175 – 225 (8.4 – 10%)	206 (9.4%)	217 (9.2%)
Pb	18 – 3540 (24 – 58%)	969 (37%)	260 (24%)	48 – 1200 (28 – 69%)	504 (49%)	264 (48%)
Zn	188 – 10125 (16 – 50%)	3150 (29%)	500 (27%)	238 – 6625 (26 – 37%)	2496 (30%)	625 (27%)
Fracción residual						
Cd	0.8 - 60.4 (3.4 – 97%)	21.4 (41%)	1.4 (35%)	0.9 - 12.8 (28 – 37%)	5.2 (33%)	2 (35%)
Co	9.6 - 14.9 (48 – 60%)	11.9 (54%)	11.5 (54%)	8.6 - 16.9 (45 – 62%)	13.6 (55%)	15.4 (57%)
Cu	23.1 - 121.6 (62 – 89%)	62.5 (75%)	44.1 (74%)	26.2 - 73.8 (67 – 75%)	56 (70%)	68.1 (69%)
Mn	3 – 2645 (0.1 – 46%)	717 (22%)	276 (18%)	249 – 405 (9.3 – 19%)	326 (15%)	325 (17%)
Pb	0 – 330 (0 – 50%)	126 (13%)	129 (5.4%)	0 – 420 (0 – 10%)	152 (6.5%)	36 (9.5%)
Zn	286 – 36275 (4 – 70%)	7714 (39%)	375 (40%)	255 – 6395 (11 – 48%)	2360 (31%)	431 (35%)

51% para Cu y del 45% para Co. La fracción reducible y las especies solubles e intercambiables de Cu y Co no poseen en este caso demasiada trascendencia, aunque en el caso del Cu los valores absolutos en esta última fracción superan en un 23% de los casos el valor de referencia de 0.7 mg kg^{-1} propuesto por Ewers (1991).

El Mn se asocia preferentemente a la fracción de óxidos (media de 47% y porcentajes máximos de 78%). La fracción ligada a carbonatos presenta un porcentaje también importante en RE, con valores de hasta 55%. La fracción residual (generalmente <25%), la unida a sulfuros y materia orgánica (<27%) y la soluble e intercambiable (<5%), no muestran generalmente porcentajes de importancia. Al tratarse de un elemento con poca toxicidad y baja movilidad en este ambiente, el riesgo ambiental generado puede considerarse reducido.

En base a los resultados de especiación de metales, los principales problemas ambientales del yacimiento de Rubiais parecen relacionarse con los riesgos de lixiviación de Zn, Pb y Cd hacia las aguas y terrenos adyacentes. Chaves-Padín (2007) estudió el efecto del yacimiento sobre las aguas del entorno y detectó en varias ocasiones la presencia de niveles relativamente elevados de Zn (de hasta 8 mg l^{-1}), pero no de Pb y Cd. Estos datos demuestran un riesgo más generalizado del Zn, mientras que los riesgos de lixiviación de Pb y Cd se restringen a algunos puntos concretos dentro del yacimiento en donde se mantienen mayoritariamente en formas intercambiables. En adición, el riesgo ambiental de las formas más móviles se extiende a la posibilidad de que los metales sean absorbidos por las plantas e incluidos en la cadena trófica. En este caso, el análisis de la fracción de metales potencialmente biodisponible puede llegar a proporcionar datos biológicamente más significativos al permitir una mejor predicción de este riesgo (Bell et al., 1991; Sims & Kline, 1991). El conjunto de metales pesados potencialmente disponibles incluye, según Brümmer (1986), las fracciones de la fase sólida del suelo que pueden ser liberados a la disolución del suelo en un plazo de tiempo relativamente corto, como puede ser un período vegetativo. El método de extracción con una disolución de EDTA podría simular la extracción de metal por la raíz vegetal y su reemplazamiento a partir de la fase sólida lábil del suelo. Se supone, no obstante, que algunos factores pueden afectar la capacidad complejante del EDTA, como la materia orgánica, el contenido de óxidos e hidróxidos de metales, pH, etc. (Sims & Johnson, 1991), y que puede ocurrir una saturación de su capacidad de extracción debido a la alta concentración de metales presentes en la solución, por lo que su interpretación debe ser cuidadosa (National Research Council, 2003). Dado que no es un método específico para el diagnóstico de la contaminación, los resultados obtenidos han de analizarse en términos de fitotoxicidad, contaminación potencial en aguas superficiales y subterráneas y el riesgo de incorporación del metal a la cadena trófica.

En la tabla 4 se presentan diferentes estadísticos descriptivos de la fracción potencialmente biodisponible de metales (extraíble en EDTA) en las muestras de suelo recogidas en el yacimiento de Rubiais, en función de la zona (RE/RM) y profundidad (I/II). En este caso no se representa el Cr debido a que los valores estaban por debajo del límite de detección (<0.5 mg kg^{-1}) en la mayor parte de las muestras.

La fracción de Zn potencialmente biodisponible (Zn_{EDTA}) muestra un amplio rango de variación, con concentraciones entre 8 y 5400 mg kg^{-1} y porcentajes relativos a la concentración total entre prácticamente 0 y 82%. Estos resultados sugieren un muy elevado riesgo de fitotoxicidad por Zn, dado que en algunos trabajos se emplean valores de concentración de Zn extraído en EDTA de 20 mg kg^{-1} como umbral de toxicidad (Aslibekian, 2003). Este valor se supera en un 92% de las muestras analizadas en el yacimiento. No existen diferencias significativas ($P<0.05$) entre profundidades, pero en términos absolutos sí se encuentran diferencias entre zonas, con concentraciones significativamente ($P<0.05$) mayores en RM (media en torno a 1900 mg kg^{-1}) frente a RE (media en torno a 900 mg kg^{-1}). Un análisis de regresión de pasos sucesivos muestra como el Zn ligado a carbonatos y el Zn ligado a óxidos de Fe y Mn explica el 88% de la varianza de la fracción de Zn_{EDTA}. El coeficiente de correlación de Pearson entre la fracción de Zn_{EDTA} y la suma de la fracción soluble/intercambiable con la fracción ligada a carbonatos y la ligada a óxidos de Fe y Mn muestra un valor altamente significativo ($P<0.01$) de 0.93.

La fracción potencialmente biodisponible de Pb (Pb_{EDTA}) muestra igualmente el elevado riesgo de fitotoxicidad y la heterogeneidad de la zona afectada, con concentraciones que oscilan entre 5 y 3690 mg kg^{-1}. En este caso se superan los 25 mg kg^{-1} utilizados como umbral de toxicidad por algunos autores (Aslibekian, 2003; Fleming & Parle, 1974) en un 89% de las muestras analizadas. La capa subsuperficial presenta valores absolutos significativamente ($P<0.05$) mayores en RE, con una media de 614 mg kg^{-1} frente a los 342 mg kg^{-1} de la capa superficial. Estas diferencias no se encuentran en RM, con valores medios en torno a 1000 mg kg^{-1} de Pb_{EDTA} independientemente de la capa del sustrato considerada. Debido a la elevada variabilidad existente, no se puede hablar de diferencias significativas ($P<0.05$) entre zonas, aunque RM muestra un valor medio (1066 mg kg^{-1}) dos veces mayor que RE (478 mg kg^{-1}). En términos relativos no se encuentran diferencias de Pb_{EDTA} entre profundidades ni entre zonas, y usualmente se alcanzan porcentajes muy elevados (>50%). En ocasiones se alcanza el 100% de Pb en forma potencialmente biodisponible, lo que puede explicarse por la elevada proporción de $PbCO_3$ existente, fácilmente soluble ante cambios físico-químicos del suelo. La fracción de Pb ligada a carbonatos explica el 14% de la varianza del Pb potencialmente biodisponible, siendo en este caso la única fracción que se correlaciona en cierto grado ($P<0.05$) con la biodisponibilidad, con un coeficiente de correlación de Pearson de 0.38.

El Cd muestra porcentajes de biodisponibilidad muy variables, similares al Zn, con un rango de concentraciones entre <0.25 mg kg^{-1} y 13.5 mg kg^{-1}. En un 69% de las muestras analizadas se supera el umbral de toxicidad de 0.8 mg kg^{-1} propuesto por algunos autores (Aslibekian, 2003; Fleming & Parle, 1974). Debido a su elevada toxicidad y tendencia a la bioacumulación, existe un amplio riesgo ambiental asociado con el nivel de Cd biodisponible en varios puntos del yacimiento de Rubiais. No existen diferencias significativas ($P<0.05$) de Cd_{EDTA} entre profundidades o zonas, ni en términos absolutos ni relativos. A pesar de ello, RM muestra una tendencia a presentar mayores concentraciones, con una media de 3.8 mg kg^{-1} respecto a los 2 mg kg^{-1} de media en RE. En términos relativos la tendencia es contraria, y en RE existen puntos con más del 80% del Cd en forma biodisponible. La fracción ligada a carbonatos y la fracción soluble/intercambiable explican el 79% de la varianza de la fracción potencialmente biodisponible, existiendo un elevado coeficiente de correlación de Pearson ($r=0.89$, $P<0.01$) entre la suma de estas dos fracciones y la fracción de Cd_{EDTA}.

La fracción de Cu potencialmente biodisponible (Cu_{EDTA}) oscila entre un mínimo de 2.2 mg kg^{-1} hasta un máximo de 98 mg kg^{-1}. Su distribución en el yacimiento parece más homogénea que en el caso de los metales anteriormente comentados, sin diferencias significativas ($P<0.05$) entre profundidades y/o zonas. El porcentaje de Cu_{EDTA} tiende a ser mayor, no obstante, en la capa subsuperficial y en RM, debido fundamentalmente a la existencia de una mayor riqueza de $CuCO_3$. La fracción ligada a carbonatos explica en este caso el 93% de la varianza de la fracción de Cu_{EDTA}, con un coeficiente de correlación de Pearson entre ambas variables de 0.97 ($P<0.01$).

En los casos del Ni y el Co, los niveles potencialmente biodisponibles se consideran bajos, entre 1 y 8 mg kg^{-1}, confirmando, junto al Cr, la escasa trascendencia que tienen estos metales dentro del yacimiento en términos de contaminación. El Ni no presenta diferencias significativas en función de la profundidad y la zona. El Co, por el contrario, presenta una mayor concentración ($P<0.05$) y un mayor porcentaje en forma potencialmente biodisponible en RM frente a RE. En términos relativos se encuentran porcentajes de biodisponibilidad de Co importantes, con valores entre 3 y 68%. En el caso del Co, la fracción ligada a sulfuros parece explicar un mayor porcentaje de la varianza de la fracción biodisponible, explicando hasta un 56% de la varianza. La suma de las fracciones soluble/intercambiable, ligada a carbonatos, a óxidos de Fe y Mn y a sulfuros, muestra un coeficiente de correlación de Pearson con la fracción potencialmente biodisponible de 0.87, altamente significativa ($P<0.01$).

El Mn, por último, no supone un excesivo riesgo ambiental debido a su escasa toxicidad. Aunque los suelos del yacimiento muestran, de nuevo, unas concentraciones potencialmente biodisponibles muy variables, entre 95 y 1330 mg kg^{-1}, no existen diferencias significativas

Tabla 4.- Estadísticos descriptivos de la fracción potencialmente biodisponible (extraído en EDTA) de metales pesados (valores absolutos en mg kg^{-1} y porcentaje de la concentración total) en los suelos del yacimiento de Rubiais, en función de la zona y profundidad. No se incluye el Cr al presentar valores habitualmente por debajo del límite de detección (<0.5 mg kg^{-1}).

	RE (I)			RE (II)		
	rango	media	mediana	rango	media	mediana
Fracción Biodisponible						
Cd_{EDTA}	<0.25 – 8.5 (5 – 82%)	2 (32%)	1.6 (26%)	<0.25 – 7.5 (5 – 100%)	2.3 (36%)	2.1 (37%)
Co_{EDTA}	2.1 - 8 (13 – 68%)	4.4 (31%)	4.2 (26%)	1.6 – 6 (16 – 64%)	3.8 (34%)	3.7 (31%)
Cu_{EDTA}	2.4 - 85.5 (7.5 – 78%)	18 (33%)	9.2 (27%)	2.2 – 93 (7.6 – 93%)	26.7 (48%)	20.5 (46%)
Mn_{EDTA}	150 – 895 (11 - 61%)	476 (31%)	455 (32%)	125 – 980 (10 – 62%)	412 (29%)	372 (29%)
Ni_{EDTA}	1.1 – 4 (3.4 – 47%)	2.2 (14%)	2.1 (8.2%)	1 - 3.5 (3.1 – 50%)	2.2 (17%)	2.1 (11%)
Pb_{EDTA}	5 – 1050 (10 – 88%)	343 (60%)	328 (63%)	5 – 2050 (10 – 100%)	615 (71%)	562 (73%)
Zn_{EDTA}	12 – 3825 (0.3 – 58%)	824 (28%)	700 (33%)	8 – 3450 (0.9 – 82%)	991 (36%)	862 (38%)

Cont.

	RM (I)			RM (II)		
	rango	media	mediana	rango	media	mediana
Fracción Biodisponible						
Cd_{EDTA}	0.5 - 13.5 (0.8 – 43%)	4 (26%)	3.0 (21%)	0.7 - 6.5 (14 – 43%)	3.8 (24%)	3.5 (19%)
Co_{EDTA}	2.9 - 7.5 (13 – 34%)	5.5 (26%)	5.5 (27%)	4 - 6.5 (15 – 34%)	5.1 (24%)	4.6 (27%)
Cu_{EDTA}	3.8 – 30 (10 – 39%)	16.1 (21%)	12.5 (19%)	7 – 28 (19 – 27%)	17.7 (23%)	18.5 (21%)
Mn_{EDTA}	95 – 1330 (7.1 – 61%)	699 (34%)	630 (33%)	220 – 990 (22 – 37%)	512 (31%)	510 (33%)
Ni_{EDTA}	2.2 - 4 (7.7 – 18%)	2.9 (11%)	2.7 (11%)	2 - 4.4 (5.1 – 21%)	3.5 (15%)	3.6 (16%)
Pb_{EDTA}	37 – 3690 (4.5 – 78%)	970 (49%)	330 (48%)	66 – 2625 (48 – 100%)	1240 (70%)	1000 (62%)
Zn_{EDTA}	130 – 5400 (8.7 – 61%)	1852 (33%)	1450 (32%)	160 – 3600 (14 – 65%)	2187 (30%)	2300 (19%)

($P<0.05$) entre profundidades y zonas ni en términos absolutos ni relativos. El porcentaje de Mn_{EDTA} oscila entre el 7 y el 61%, sin que la variabilidad en este caso pueda ser explicada claramente por alguna de las fracciones metálicas. La suma de las fracciones soluble/intercambiable, ligada a carbonatos y a óxidos de Fe y Mn muestran un coeficiente de correlación de Pearson con la fracción de Mn potencialmente biodisponible de 0.47 ($P<0.01$).

De una manera generalizada, se acepta que los porcentajes de metales en la fracción soluble e intercambiable, que marca la movilidad del contaminante, así como en la fracción potencialmente biodisponible, que marca la fitotoxicidad, dependen de distintas propiedades físico-químicas del suelo, fundamentalmente pH, contenido en materia orgánica y CICe. Esto deriva en la existencia de multitud de estudios que se basan en el análisis de la relación existente entre estas variables y las distintas fracciones metálicas (Buanuam et al., 2005; Martinez et al., 2000; Stahl & James, 1991; Basta et al., 1993; Zauner et al., 1999). Un análisis de regresión linear de pasos sucesivos en los suelos del yacimiento de Rubiais, (Tabla 5) revela que el pH explica en este caso un 26, 29 y 56% de la varianza del porcentaje de la fracción soluble/intercambiable de Zn, Cd y Cu, respectivamente. La CICe se muestra como un factor secundario, explicando tan sólo un 11% de la varianza de la fracción soluble/intercambiable de Zn y Pb y un 6 y 19% de la varianza de Cu y Mn, respectivamente. El contenido en S, en el caso del Pb (por la existencia de altos contenidos en galena), y la concentración total de metal, en el caso del Co, explican un 19 y 55 % de la varianza de la fracción soluble/intercambiable de cada uno de estos metales.

Tabla 5.- Coeficientes de regresión lineal de pasos sucesivos (stepwise) entre el porcentaje de metales en formas solubles/intercambiables y el porcentaje de metales en formas biodisponibles y diferentes parámetros del suelo.

	Variables Independientes	R^2		Variables Independientes	R^2
%Cd $_{soluble/intercamb.}$	pH agua	0.29	%Cd $_{Biodisponible}$	pH agua	0.39
				CICe	0.47
				Contenido en S	0.52
%Co $_{soluble/intercamb.}$	Contenido total de Co	0.55	%Co $_{Biodisponible}$	Contenido total de Co	0.66
%Cu $_{soluble/intercamb.}$	pH agua	0.56	%Cu $_{Biodisponible}$	pH agua	0.26
	CICe	0.62			
%Mn $_{soluble/intercamb.}$	CICe	0.19	%Mn $_{Biodisponible}$	Contenido en S	0.08
%Ni $_{soluble/intercamb.}$	-	-	%Ni $_{Biodisponible}$	Contenido total de Ni	0.80
				pH agua	0.82
				CICe	0.84
%Pb $_{soluble/intercamb.}$	CICe	0.11	%Pb $_{Biodisponible}$	pH agua	0.14
	Contenido total de Pb	0.26			
	Contenido en S	0.45			
%Zn $_{soluble/intercamb.}$	pH agua	0.26	%Zn $_{Biodisponible}$	CICe	0.28
	CICe	0.37		pH agua	0.44
				Contenido en S	0.50

El análisis de regresión en la fracción potencialmente biodisponible (Tabla 5) vuelve a mostrar al pH del suelo como el factor generalmente más influyente, explicando un 15, 14, 39 y 26% de la varianza del porcentaje potencialmente biodisponible de Zn, Pb, Cd y Cu, respectivamente. La CICe explica un 28, un 7 y un 2% de la varianza de Zn, Cd y Ni respectivamente, mostrándose otra vez como el segundo factor más influyente. Estos resultados están de acuerdo con los encontrados sobre otros suelos mineros de Galicia (Monterroso et al., 1999; Alvarez et al., 2003), pero en este caso la poca influencia del porcentaje de C podría explicarse por la escasez de materia orgánica en los suelos del yacimiento de Rubiais. Por otro lado, la fracción biodisponible de metales como el Ni y el Co únicamente se relacionan con el contenido total de metal, que explica un 80 y un 66% de la varianza del porcentaje potencialmente biodisponible, respectivamente. El 7 y 5% de la varianza en el caso del Zn y Cd respectivamente, es explicada por el contenido en S, ya que implica la existencia de blenda y calcopirita que limitan la biodisponibilidad de estos metales. En cualquier caso, en todos los estudios de este tipo se recalca la dificultad de encontrar buenas correlaciones entre el porcentaje soluble/intercambiable o potencialmente biodisponible de metales y las distintas propiedades físico-químicas del suelo, debido a la elevada heterogeneidad presente en los suelos mineros. Por el contrario, en otros tipos de suelos, normalmente una o dos propiedades explican una larga proporción de la varianza de la concentración de metal soluble/intercambiable o biodisponible (Alvarez et al, 2003).

Metales pesados en la vegetación colonizadora – tolerancia de metales pesados

El establecimiento de la vegetación en escombreras de mina es siempre difícil (Ernst, 1988; Johnson et al., 1994). La disponibilidad y toxicidad de metales como el Zn, el Pb y el Cd, así como el bajo contenido en nutrientes y la pobre estructura física de los suelos son los principales factores limitantes en el establecimiento y colonización de plantas en el área afectada por el yacimiento de Rubiais, tal y como suele suceder en los suelos de este tipo de minas (Tordoff et al., 2000; Ye et al., 2002). En algunas áreas se ha visto que la abundancia de especies vegetales y la cobertura vegetal disminuye con el aumento de metal en el suelo, sobreviviendo únicamente en el entorno minero especies metalófitas y pseudometalófitas hipertolerantes a elevadas concentraciones de metales (Becerril et al., 2007).

El yacimiento de Rubiais presenta una vegetación adaptada a las condiciones de la mina que se extiende por todo el territorio afectado durante los trabajos de extracción. Las únicas localizaciones en donde no se encontró crecimiento de ningún tipo de vegetación fueron los puntos RE1 y RM9. En la figura 6 se representan las especies vegetales encontradas y su frecuencia de aparición en los puntos de muestreo seleccionados a lo largo del yacimiento. Las especies dominantes más representativas en la mina de Rubiais son *C. scoparius, B. celtibérica, C. multiflorus, S. atrocinerea* y *Hieracium sp*., mientras que *L. corniculatum*, *E. arborea, Rosa sp*. y *T. officinale* se muestran como especies ocasionales.

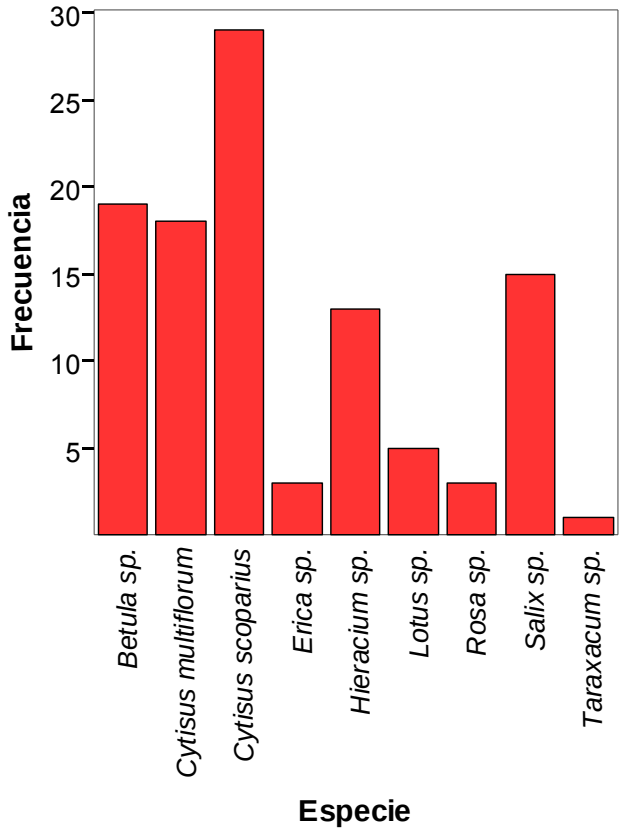

Figura 6.- Especies vegetales encontradas en el yacimiento de Rubiais y frecuencia de aparición en los puntos de muestreo seleccionados.

La tabla 6 indica la presencia/ausencia de las especies encontradas en el yacimiento en función de la concentración biodisponible de metales en la capa superficial del suelo sobre el que crecen, considerando los metales más contaminantes en el área de estudio (Zn, Pb, Cd y Hg). Las especies menos abundantes muestran, lógicamente, una distribución más heterogénea dentro del yacimiento, y parece que *E. arbórea*, *L. corniculatus* y *Rosa sp*. restringen su crecimiento a aquellos suelos con una menor concentración de metales biodisponibles. Excepcionalmente, cabe destacar que el único individuo de *T. officinale* detectado durante el muestreo se encuentra presente en suelos con una elevada concentración de Zn y Cd biodisponibles (2000-2500 y 4.5-6 mg kg^{-1}, respectivamente). *S. atrocinerea* se presenta como una especie común dentro del yacimiento, aunque su presencia parece restringirse a suelos con concentraciones biodisponibles de Zn, Pb, Cd y Hg total por debajo de 1500, 900, 4.5 y 12 mg kg^{-1}, respectivamente. Por el contrario, *B. celtibérica*, *Hieracium sp*. y, principalmente, *C. multiflorus* y *C. scoparius* parece que se distribuyen homogéneamente a lo largo del yacimiento independientemente de la concentración de metales pesados biodisponibles en los suelos, mostrándose como especies claramente hipertolerantes.

Tabla 6.- Presencia (X) / Ausencia (0) de las especies encontradas en el yacimiento de Rubiais en función de la concentración biodisponible de Zn, Pb, Cd y concentración total de Hg en la capa superficial del suelo.

		Betula celtibérica	*Cytisus multiflorus*	*Cytisus scoparius*	*Erica arbórea*	*Hieracium sp.*	*Lotus corniculatus*	*Rosa sp.*	*Salix atrocinerea*	*Taraxacum officinale*
Zn Biodisponible (mg kg^{-1})	0-500	X	X	X	X	X	X	O	X	O
	500-1000	X	X	X	X	X	X	X	X	O
	1000-1500	X	X	X	X	X	X	X	X	O
	1500-2000	O	X	X	O	X	O	O	O	O
	2000-2500	O	X	X	O	X	O	O	O	X
	>2500	X	X	X	O	O	O	O	O	O
Pb Biodisponible (mg kg^{-1})	0-300	X	X	X	X	X	O	O	X	O
	300-600	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	600-900	X	X	X	O	X	X	X	X	O
	900-1200	O	X	X	O	O	O	O	O	O
	>1200	X	O	X	O	O	O	O	O	O
Cd Biodisponible (mg kg^{-1})	0-1.5	X	X	X	X	X	X	O	X	O
	1.5-3	X	X	X	X	X	X	X	X	O
	3-4.5	X	X	X	O	X	X	X	X	O
	4.5-6	O	X	X	O	X	O	O	O	X
	>6	X	X	X	O	O	O	O	O	O
Hg total (mg kg^{-1})	0-4	X	X	X	X	X	X	X	X	O
	4-8	X	X	X	O	X	X	X	X	X
	8-12	O	X	X	O	O	O	O	X	O
	12-16	X	X	X	O	X	O	O	O	O
	>16	X	O	X	O	O	O	O	O	O

El crecimiento de estas especies sobre el área minera puede derivar en una absorción del metal hacia los tejidos vegetales, pudiendo alcanzar concentraciones potencialmente tóxicas para la alimentación animal y humana. Esto es particularmente cierto con metales como el Cd o el Pb, para los que la toxicidad vegetal suele aparecer a concentraciones muy superiores a las consideradas como deseables para la absorción humana (Tiller, 1989). Las concentraciones de metales pesados en las plantas variaron ampliamente dentro del yacimiento de Rubiais, siendo representados los rangos de concentración encontrados en hojas para cada uno de los metales en función de la especie de planta en la tabla 7. En la última fila se presentan igualmente

valores de referencia propuestos por distintos autores que, como término medio, las plantas no suelen superar por la aparición de claros síntomas de toxicidad.

El rango de concentración de Zn en la vegetación del yacimiento de Rubiais difiere claramente entre especies, de manera que *B. celtibérica* y, principalmente, *S. atrocinerea* presentan valores máximos de Zn en hoja, con 700 y 800 mg kg^{-1}, respectivamente. En el caso opuesto se encuentran *E. arbórea* y *Rosa sp*., que no superan, en ningún caso, los 42-43 mg kg^{-1} de Zn en hoja. *Betula celtibérica*, *S. atrocinerea* y *T. officinale*, aunque en este último caso sólo se recolectó un individuo de referencia, superan en el 100% de las muestras analizadas los valores críticos generales de fitotoxicidad estipulados por Kabata-Pendias & Pendias (1984) y por Marschner (1995). Ello demuestra una gran tolerancia de estas especies a la acumulación de Zn en sus tejidos. *Lotus corniculatus* e *Hieracium sp.* sólo superan el valor crítico estipulado por Marscher (1995) en un 20% y un 38.5% de las muestras analizadas respectivamente, aunque siguen superando en un 100% el valor crítico estipulado por Kabata-Pendias & Pendias (1984). *Cytisus scoparius* y *C. multiflorus* muestran rangos de concentración de Zn en hoja considerablemente inferiores. Únicamente un 6.9 y 5.5%, respectivamente, superan el límite propuesto por Marschner (1995), y un 31% y un 22%, respectivamente, superan el propuesto por Kabata-Pendias & Pendias (1984). Ello muestra una tendencia del género *Cytisus* a mantener bajas concentraciones de Zn en sus tejidos aéreos a pesar de las elevadas concentraciones en suelo, debiendo de existir procesos de exclusión.

El rango de concentración de Pb en la vegetación del yacimiento muestra, independientemente de la especie de planta considerada, y al contrario que el Zn, máximos muy por debajo del nivel considerado tóxico por Kabata-Pendias & Pendias (1984). *Cytisus scoparius* es en este caso la especie que presenta el valor máximo, con 18.8 mg kg^{-1}. *Betula celtibérica*, *L. corniculatus* y *Hieracium sp*. muestran máximos en torno a 4-7, mientras que el resto de las especies presentan concentraciones de Pb muy por debajo. Estos resultados revelan la inexistencia de una absorción y/o translocación activa de Pb hacia los tejidos aéreos de las plantas desarrolladas sobre el yacimiento, lo que es esperable al tratarse de un elemento usualmente poco móvil y asimilable (Blaylock et al., 1997; Huang et al., 1997).

Algo similar sucede en los casos del Cd y el Hg. Su concentración en hoja no supera en ningún caso el umbral de fitotoxicidad propuesto por Kabata-Pendias & Pendias (1984). Las concentraciones máximas de Cd son alcanzadas por *B. celtibérica* y *S. atrocinerea*, con valores de tan sólo 3.4 y 4.2 mg kg^{-1}, respectivamente. De esta manera, la vegetación no refleja el elevado porcentaje de Cd potencialmente biodisponible que existe en muchos puntos del yacimiento, debiendo restringir su absorción y acumulación. Las concentraciones máximas de Hg en hoja se alcanzan en *C. scoparius*, con 0.2 mg kg^{-1}, que puede ser considerado un valor bajo.

Tabla 7.- Rangos de concentración y valor medio (entre paréntesis) de metales en hojas de distintas especies de plantas encontradas en el yacimiento de Rubiais. La última fila presenta valores de concentración de referencia por encima de los cuales suelen aparecer síntomas de toxicidad en plantas.

	Zn	Pb	Cd	Hg	Cu	Cr	Ni	Co	Mn
					(mg kg^{-1})				
Cytisus scoparius	41-470 (146.3)	0.01-19 (1.8)	0.1-1.9 (0.5)	0.01-0.2 (0.05)	5.0-17.0 (10.8)	<5-8.0 (2.8)	<5-10.0 (4.2)	<5-<5 (<5)	80-1330 (441.4)
Cytisus multiflorus	41-330 (109.2)	0.01-1.8 (0.6)	0.1-0.8 (0.3)	0.02-0.1 (0.05)	2.5-15.0 (7.5)	<5-<5 (<5)	<5-9.0 (4.6)	<5-<5 (<5)	150-2410 (497.2)
Betula celtibérica	340-700 (468.9)	0.2-6.8 (0.9)	0.5-3.4 (1.2)	0.01-0.1 (0.05)	5.0-15.0 (9.2)	>5-7.0 (<5)	<5-10.0 (5.5)	<5-<5 (<5)	21-2350 (609.8)
Erica arborea	24-42 (31)	0.5-0.7 (0.6)	0.03-0.05 (0.04)	0.02-0.07 (0.05)	5.0-15.0 (10.0)	<5-<5 (<5)	6.0-8.0 (7.0)	<5-<5 (<5)	460-930 (620)
Hieracium sp.	110-500 (286.9)	0.06-5.3 (1.9)	0.1-3.2 (1.3)	0-0.1 (0.05)	5.0-17.0 (12.5)	<5-6.0 (<5)	<5-10.0 (4.9)	<5-<5 (<5)	40-270 (118.4)
Lotus corniculatus	160-350 (240)	0.4-4.0 (1.8)	0.3-0.8 (0.5)	0.01-0.1 (0.06)	8.0-13.0 (9.6)	<5-<5 (<5)	<5-8.0 (3.6)	<5-<5 (<5)	25-49 (37.6)
Rosa sp.	33-43 (37)	0.2-0.5 (0.3)	0.02-0.1 (0.06)	0.01-0.05 (0.03)	5.0-8.0 (6.3)	<5-<5 (<5)	<5-8.0 (4.3)	<5-<5 (<5)	39-90 (58.7)
Salix atrocinerea	400-800 (543.3)	0.02-1.9 (0.7)	0.1-4.2 (2.4)	0.01-0.1 (0.05)	7.0-29.0 (17.3)	<5-8.0 (3.0)	<5-19.0 (8.2)	<5-<5 (<5)	48-2220 (478.7)
Taraxacum officinale	520 (N=1)	0.7 (N=1)	0.6 (N=1)	0.02 (N=1)	18.0 (N=1)	7.0 (N=1)	<5 (N=1)	<5-<5 (<5)	110 (N=1)
Umbral de Fitotoxicidad	**300[a] 150[b]**	**30[b]**	**5[b]**	**1[b]**	**20-30[a] 20[b]**	**-**	**10-50[a] 10[b]**	**-**	**300[b]**

a. Marscher, 1995.
b. Kabata-Pendias & Pendias, 1984.

En cuanto a los rangos de concentración de Cu en hojas, no existen demasiadas variaciones entre las distintas especies analizadas, quizás por la existencia de pocos puntos de muestreo con niveles contaminantes en este metal. Los valores de concentración en la vegetación del yacimiento giran usualmente en torno a 5-17 mg kg^{-1}, aunque en el caso de *S. atrocinerea* se encuentra una mayor acumulación de Cu, con valores máximos de hasta 29 mg kg^{-1}, lo que se ajusta aproximadamente al rango propuesto por Reeves & Baker (2000) para especies que crecen en suelos metalíferos (5-25 mg kg^{-1}). Aproximadamente un 27% de las muestras de *S. atrocinerea* analizadas a lo largo del yacimiento superan el límite de toxicidad propuesto por Kabata-Pendias & Pendias (1984), pero en ningún caso superan el propuesto por Marscher (1995). No obstante, los resultados muestran claramente una tendencia de *S. atrocinerea* a acumular una mayor cantidad de Cu en sus tejidos aéreos.

Metales como el Cr, Ni y Co no presentan niveles elevados en los suelos del yacimiento, lo que se refleja en la mayoría de las muestras de vegetación analizadas. Las concentraciones en hoja pueden ser consideradas muy bajas, con valores en su gran mayoría por debajo del límite de detección (<5 mg kg^{-1}). En el caso del Ni, no obstante, se encuentran nuevamente las mayores concentraciones en *S. atrocinerea*, que en dos ocasiones presenta valores por encima del límite de fitotoxicidad propuesto por Kabata-Pendias & Pendias (1984).

El Mn, a pesar de las altas concentraciones en los suelos del yacimiento, es un elemento menos tóxico y, generalmente, más abundante en suelos y plantas. Las concentraciones en hojas de la vegetación del yacimiento muestran una amplia variación entre individuos, independientemente de la especie vegetal considerada. Ello demuestra la existencia de multitud de factores edáficos y fisiológicos que influyen en su absorción y acumulación. En cualquier caso, los rangos de variación en especies como *C. scoparius*, *C. multiflorus*, *E. arbórea*, *B. celtibérica* y *S. atrocinerea* superan ampliamente el rango de variación normal propuesto por Reeves & Baker (2000) en plantas que crecen sobre suelos metalíferos (20-400 mg kg^{-1}). *Cytisus multiflorus*, *S. atrocinerea* y *B. celtibérica* muestran valores máximos en torno a 2200-2400 mg kg^{-1}, que pueden ser considerados elevados. Un 55%, 46% y 63% de los individuos recolectados para cada una de estas especies superan el límite de fitotoxicidad propuesto por Kabata-Pendias & Pendias (1984). *Cytisus scoparius* lo supera en un 61% de los casos, mientras que *E. arborea*, con sólo 3 muestras recolectadas, lo supera en el 100% de los casos. El resto de las especies estudiadas, *T. officinale*, *L. corniculatus*, *Rosa sp*. y *Hieracium sp*. muestran siempre valores de Mn inferiores al límite de toxicidad de Kabata-Pendias & Pendias (1984).

El amplio rango de concentración encontrado para muchos metales en la vegetación del yacimiento de Rubiais puede deberse a la elevada heterogeneidad del sustrato en el área estudiada y a sus variaciones en la concentración de metales potencialmente biodisponibles. En este sentido, se acepta generalmente que la acumulación de metales pesados en los tejidos aéreos de la vegetación depende en gran medida, además de la especie de planta considerada, de la concentración de metal biodisponible en el sustrato de crecimiento. La relación existente entre estas dos variables, la concentración en planta y la concentración en suelo, se ha estudiado en numerosas ocasiones (Sims & Jonson, 1991; Mench et al., 1994; Ullrich et al., 1999; Asami et al., 1995; Sims & Kline, 1991). En la tabla 8 se presentan los coeficientes de correlación de Pearson encontrados entre la concentración de cada uno de los metales en las hojas de las plantas recolectadas en el yacimiento de Rubiais y la concentración biodisponible (extraíble en EDTA) de la capa superficial del sustrato sobre el que crecen, para aquellas especies con N >5.

Tabla 8.- Coeficientes de correlación de Pearson entre la concentración de metales en hojas y la concentración biodisponible (extraíble en EDTA) de la capa superficial del suelo para aquellas especies recolectadas en el yacimiento de Rubiais con N >5. El Co no se representa al presentar concentraciones en hoja por debajo del límite de detección (<5 mg kg^{-1}).

	$[Cd]_{planta}$ vs $[Cd]_{suelo}$	$[Cr]_{planta}$ vs $[Cr]_{suelo}$	$[Cu]_{planta}$ vs $[Cu]_{suelo}$	$[Hg]_{planta}$ vs $[Hg]_{suelo}$	$[Mn]_{planta}$ vs $[Mn]_{suelo}$	$[Ni]_{planta}$ vs $[Ni]_{suelo}$	$[Pb]_{planta}$ vs $[Pb]_{suelo}$	$[Zn]_{planta}$ vs $[Zn]_{suelo}$
B. celtibérica	0.71**	-0.10	-0.36	0.38	0.08	0.12	0.88**	0.63**
C. multiflorus	-0.12	.(a)	-0.36	-0.08	0.01	-0.13	-0.37	0.47*
C. scoparius	0.71**	0.73**	-0.39*	0.54**	-0.05	-0.45*	0.73**	0.69**
Hieracium sp.	0.50	.(a)	0.53	0.46	-0.34	-0.32	0.28	0.40
L. corniculatus	0.25	.(a)	-0.34	-0.32	0.62	0.53	0.30	0.33
S. atrocinerea	-0.03	-0.10	0.67**	0.38	-0.11	-0.19	0.69**	-0.16

**** La correlación es significativa a un nivel de 0.01 (2-colas).**
*** La correlación es significativa a un nivel de 0.05 (2-colas).**
(a) No puede ser computado porque las plantas presentan valores por debajo del límite de detección (<5 mg kg^{-1}).

La concentración en hojas de *B. celtibérica* muestra una correlación muy significativa (P<0.01) con la concentración potencialmente biodisponible en suelos para el caso del Cd, Pb y Zn. *Salix atrocinerea* muestra lo mismo para el caso del Cu y Pb, mientras que *C. scoparius* para el Cd, Cr, Hg, Pb y Zn. En estos casos, la concentración potencialmente biodisponible del metal en la capa superficial del suelo parece influir en la concentración alcanzada en las hojas de cada una de estas especies y en la amplia variabilidad encontrada. En cualquier caso, la absorción de metales por la vegetación es específica de cada especie vegetal (Merian, 1991) y la fisiología de cada planta y la bioquímica de la rizosfera puede alterar la relación entre ambas variables (Basta et al., 2005) mediante el desarrollo de barreras de absorción o mecanismos de exclusión específicos.

Un análisis de la correlación existente entre la concentración de los distintos metales en plantas podría dilucidar, en adición, la existencia de posibles interferencias o asociaciones entre los elementos asimilados. Se sabe que, en general, la hipertolerancia de Zn no es segregada junto con otros fenotipos de tolerancia a metales, aunque la cotolerancia de Cd, Co, Cu, Cd, Ni y/o Pb puede ocurrir (Cox & Hutchinson, 1980; Symeonidis et al., 1985; Macnair, 1990, 1993; Brown & Brinkmann, 1992; Schat & Vooijs, 1997). En este sentido, en el yacimiento de Rubiais se detectan generalmente e independientemente de la especie de planta considerada, correlaciones significativas (P<0.01) entre el Ni y el Mn por un lado, y entre el Zn, Pb, Cd y Hg por el otro.

Tasas de bioacumulación de metales en plantas - Implicaciones en fitocorrección

Las poblaciones vegetales adaptadas a ambientes mineros con altos niveles de metales pesados en los suelos presentan una mayor resistencia hacia ambientes contaminados (Lopes et al., 2005). Los resultados obtenidos en cuanto a la concentración de metales en plantas indican que las especies recolectadas a lo largo del yacimiento de Rubiais difieren en su estrategia de tolerancia hacia distintos metales. Existen especies capaces de mantener niveles muy bajos de determinados metales en sus tejidos a pesar de la concentración elevada del suelo y, por el contrario, otras especies pueden acumular elevadas concentraciones sin mostrar síntomas de toxicidad claros. Estas estrategias de tolerancia han sido descritas en plantas creciendo sobre suelos ricos en metales por Baker et al. (1981), distinguiendo entre plantas exclusoras, indicadoras y acumuladoras.

La capacidad de exclusión/acumulación de metales por las plantas estudiadas puede ser cuantificada mediante el cálculo del factor de Bioacumulación (FB), que muestra la relación existente entre la concentración de metal en la parte aérea de las plantas y la concentración de metal en el suelo (Mattina et al., 2003; McGrath & Zhao, 2003). Aquellas especies exclusoras poseen FB menores que 1, tanto menores cuanto mayor es su capacidad de exclusión. Por el contrario, aquellas especies acumuladoras presentan valores de FB mayores que 1, tanto mayores cuanto mayor es su capacidad de acumulación. En la tabla 9 se representa el rango de variación y los valores medios de FB para los distintos metales y diferentes especies estudiadas, considerando la concentración en hojas y la concentración de metal potencialmente biodisponible del suelo sobre el que crecen las plantas. En el caso del Hg, no obstante, se emplea la concentración total por carecer de datos sobre la fracción potencialmente biodisponible. Los rangos de variación en el FB de la vegetación del yacimiento suele ser amplia para la mayor parte de los metales, quizás por la elevada heterogeneidad y variabilidad de las propiedades físico-químicas de los suelos y las propias variaciones genéticas entre los individuos muestreados.

Toda la vegetación del yacimiento, independientemente de la especie, presenta en su tejido aéreo cierta acumulación de Cr, Ni y Cu, con valores de FB usualmente mayores que 1. Sin embargo, generalmente las tasas de bioacumulación en las especies acumuladoras se reducen con el incremento de metal en el suelo (McGrath & Zhao, 2003), de manera que los valores de FB obtenidos para este tipo de metales que usualmente no presentan niveles de contaminación en el yacimiento poseen una menor trascendencia. En este sentido, de acuerdo con los resultados mostrados con anterioridad, los metales con un mayor nivel de contaminación en el yacimiento de Rubiais son el Zn, el Cd y en cierta medida el Pb y Hg. McGrath & Zhao (2003) consideran FB<0.2 como valores normales cuando las plantas crecen sobre suelos contaminados. Sin embargo, gran parte de las especies estudiadas, salvo *L. corniculatus*, *Rosa sp*., *T. officinale* y *E. arborea* (en el caso del Cd), presentan valores

máximos de FB(Zn) y FB(Cd)>1. Cabe destacar, no obstante, dos especies, *B. celtibérica*, con valores máximos de FB(Zn) en torno a 34 y FB(Cd) en torno a 6, y principalmente *S. atrocinerea*, con valores máximos de FB(Zn) en torno a 44 y FB(Cd) en torno a 30. Valores similares de FB para *S. atrocinerea* fueron encontrados también en otros yacimientos mineros de Galicia (Alvarez et al., 2003). Ambas especies, junto con *Hieracium sp*. en el caso del Zn, son las únicas que muestran usualmente una acumulación de Zn y Cd en sus tejidos aéreos, lo que se traduce en valores medios >1. Otras especies como *C. scoparius* y *C. multiflorus* presentan valores máximos de FB(Zn) y FB(Cd) en torno a 4-7 y 5, respectivamente, pero las medias de FB(Zn,Cd)<1 muestran que la acumulación de estos metales en sus tejidos aéreos no es usual dentro del yacimiento. Contrariamente al Zn y al Cd, en el caso del Pb y el Hg se encuentran siempre valores de FB<1 y usualmente <0.1, lo que implica una fuerte exclusión de estos metales por todas las especies analizadas. El Mn muestra unos valores medios de FB en torno a 1 en la mayor parte de las especies, salvo *en Hieracium sp*., *L. corniculatus* y *Rosa sp*., que presentan valores menores, lo que implica una tendencia a un comportamiento usualmente

Tabla 9.- Rango de variación y valores medios (entre paréntesis) del factor de bioacumulación (FB= [Metal]$_{Hoja}$/[Metal]$_{Suelo(EDTA)}$) de metales en diferentes especies del yacimiento de Rubiais. En el caso del Hg se emplea la concentración total en suelo.

	FB Cr	FB Ni	FB Mn	FB Zn	FB Co	FB Cu	FB Pb	FB Cd	FB Hg
C. scoparius	4.5-24 (10,1)	0.6-9.1 (2,3)	0.1-3.7 (1,0)	0.05-6.7 (0,7)	0.3-1.1 (0,6)	0.1-6.2 (1,7)	0.0- 0.1 (0,01)	0.0-5.1 (0,7)	0.0-0.2 (0,03)
C. multiflorus	2.6-10 (9,3)	0.7-6.9 (2,3)	0.2-4.8 (1,1)	0.04-3.7 (0,8)	0.4-0.8 (0,6)	0.1-4.6 (1,4)	0.0-0.1 (0,01)	0.0-5.1 (0,7)	0.0-0.1 (0,03)
B. celtibérica	2.6-28 (9,7)	0.6-7.7 (2,6)	0.02-6.1 (1,5)	0.1-34.2 (7,1)	0.3-1.2 (0,6)	0.1-5.8 (1,6)	0.0-0.1 (0,02)	0.2-5.7 (2,1)	0.0-0.2 (0,05)
E. arborea	10-10 (10,0)	2.6-6.1 (3,9)	0.9-1.5 (1,3)	0.02-2 (0,7)	0.5-0.7 (0,6)	0.4-6.2 (2,6)	0.0-0.1 (0,05)	0.0-0.2 (0,1)	0.0-0.05 (0,04)
Hieracium sp.	10-24 (11,8)	0.6-6.2 (2,2)	0.05-1.5 (0,3)	0.1-10.7 (1,5)	0.3-1.0 (0,6)	0.5-3.6 (1,4)	0.0-0.04 (0,01)	0.2-1.8 (0,8)	0.0-0.04 (0,01)
L. corniculatus	2.6-10 (6,3)	1-3.4 (1,7)	0.07-0,1 (0,1)	0.2-0.5 (0,3)	0.6-1.2 (0,9)	0.1-1.2 (0,5)	0.0-0.01 (0,01)	0.1-0.4 (0,2)	0.0-0.02 (0,01)
Rosa sp.	2.6-10 (5,7)	1.2-3.4 (2,0)	0.1-0.2 (0,1)	0.0-0.05 (0,04)	0.8-1.2 (1,0)	0.1-0.4 (0,2)	0,0-0,0 (0.00)	0.0-0.04 (0,02)	0.0-0.01 (0,01)
S. atrocinerea	4.5-32 (11,8)	0.9-14.6 (3,7)	0.06-4.4 (1,0)	0.4-43.7 (10,9)	0.3-1.0 (0,5)	0.3-5.4 (2,4)	0.0-0.05 (0,01)	0.1-30.5 (6,5)	0.0-0.2 (0,05)
T. officinale	(28,0) (N=1)	(1,6) (N=1)	(0,12) (N=1)	(0,22) (N=1)	(0,60) (N=1)	(1,33) (N=1)	(0.00) (N=1)	(0,11) (N=1)	(0.00) (N=1)

indicador en las especies del yacimiento. Los valores máximos se encuentran en *B. celtibérica*, *C. multiflorus*, *S. atrocinerea* y *C. scoparius*, lo que está de acuerdo con los resultados encontrados por Alvarez et al. (2003) en donde se pone de manifiesto que las especies arbóreas (leñosas) tienden a presentar usualmente una mayor acumulación de Mn.

Las especies acumuladoras de metales son potencialmente utilizables en procesos de fitoextracción en suelos contaminados. Sin embargo, la biomasa y el nivel de bioacumulación alcanzado por las plantas son los dos factores claves que definen la eficiencia del proceso (McGrath & Zhao, 2003), y es obvio que aquellas especies con un bajo nivel de acumulación requieren demasiado tiempo para la recuperación de un suelo. McGrath & Zhao (2003) afirman que, asumiendo una producción de biomasa de 10 t ha^{-1} por cosecha, que es fácilmente conseguida por muchas especies agrícolas, el factor de bioacumulación (FB) debe ser de al menos 20 para conseguir reducir a la mitad la concentración de metal en el suelo en menos de 10 cosechas. De manera similar, con una biomasa elevada de 20 t ha^{-1} por cosecha, se requiere un FB de al menos 10. En vista de los resultados obtenidos en la vegetación del yacimiento de Rubiais, especies arbóreas de alta producción de biomasa como *B. celtibérica* y *S. atrocinerea* podrían resultar eficientes en procesos de fitoextracción de Zn y Cd bajo determinadas circunstancias. Estas especies muestran en ocasiones FB superiores a los valores de referencia mencionados y cercanos a los encontrados para muchas especies hiperacumuladoras ampliamente estudiadas, con valores usualmente entre 50-100 (Zhao et al., 2003; Ma et al., 2001; Tu et al., 2002). En este sentido, algunos estudios en condiciones de campo de la conocida hiperacumuladora de Zn *Thlaspi caerulescens* muestran FB(Zn) entre 1, en suelos con una fuerte contaminación, y 30 en suelos moderadamente contaminados (Zhao et al., 2003). Por su parte, el mejor ecotipo de *T. caerulescens* en cuanto a la acumulación de Cd, denominado *Ganges*, mostró un FB(Cd) entre 20 y 60 cuando las plantas crecieron en un suelo moderadamente contaminado (1-10 mg kg^{-1} de Cd) (Lombi et al., 2000; Zhao et al., 2003). *Betula celtibérica* y principalmente *S. atrocinerea* muestran valores máximos de FB similares, aunque la amplia variabilidad de acumulación existente en estas especies exige, no obstante, estudios que definan las características edáficas y genéticas que permitan siempre una acumulación máxima. Estudios sobre diferentes clones de Salix, como *Salix fragilis* 'Belgisch Rood', *Salix viminalis* 'Aage', *Salix viminalis* 'Orm" y otros clones derivados de diferentes cruces, muestran, por ejemplo, diferencias en el crecimiento y acumulación de metales en suelos contaminados (Vandecastele et al., 2004; Greger & Landberg, 1999; Greger et al., 2001; Greger, 2005; Vysloužilová et al., 2003).

Por otro lado, las especies exclusoras de metales son potencialmente utilizables en procesos de fitoestabilización de suelos contaminados. La revegetación de espacios contaminados se considera una de las técnicas más sostenibles para conseguir una estabilización de los suelos a largo plazo (Tordoff et al., 2000). El crecimiento de vegetación hipertolerante aporta protección efectiva contra el arrastre de partículas por el viento y por el

flujo superficial del agua y sedimentos, promueve la recuperación de los ciclos de nutrientes y forma la base para el establecimiento de una cubierta vegetal sostenible por sí misma (Norland & Veith, 1995). En adición, la exclusión de la mayor parte del metal permite mantener unas concentraciones de metales bajas en los tejidos vegetales, evitando la entrada de metales en la cadena trófica. En este sentido, la mayor parte de las especies vegetales encontradas en el yacimiento de Rubiais, salvo las mencionadas anteriormente para el caso del Zn y el Cd, se comportan usualmente como especies exclusoras de Zn, Cd, Pb y Hg, a pesar de la elevada concentración de estos metales en los suelos. Especialmente especies como *C. scoparius* y *C. multiflorus*, que demuestran en el estudio realizado una gran tolerancia a elevados niveles de Zn, Cd y Pb en los suelos, podrían resultar interesantes en este sentido.

4. CONCLUSIONES

Los suelos del yacimiento de Rubiais se caracterizan por presentar valores de pH en el rango 6-9. La mayor parte son suelos neutros (pH 6.6-7.3) en la capa superficial (0-15cm) y ligeramente alcalinos (pH 7.4-7.8) en la capa subsuperficial (15-30cm). La mayor parte de los suelos analizados presentan una ausencia general de S y una CICe <10 cmol(+) kg^{-1}, que se considera un valor bajo y representa una escasa capacidad de retención de cationes. Ello se traduce en una acusada carencia de nutrientes tales como el K^{+} y puntualmente también de Ca^{+2} y Mg^{+2}. En adición, los suelos poseen una escasa cantidad de materia orgánica, con bajos contenidos en C, la mayor parte de origen inorgánico, y muy bajos contenidos en N. Este déficit acusado de nutrientes convierte a los suelos del yacimiento en suelos con una escasa fertilidad. El contenido en Na^{+} indica suelos generalmente “no salinos”, aunque puntualmente pueden ser clasificados como “algo salinos”.

Los suelos presentan de manera generalizada una fuerte contaminación en Zn, Pb, Cd y Hg y puntualmente una ligera contaminación en Cu y Ni. Los niveles de contaminación varían ampliamente entre diferentes puntos de muestreo, lo que demuestra la elevada heterogeneidad existente. A pesar de ello, se puede afirmar que, de manera general, existe una mayor contaminación en la denominada zona de mina (RM), en donde se llevaban a cabo procesos de beneficiación del mineral (trituración, molienda, concentración, etc.). El porcentaje de metales en la fracción soluble e intercambiable suele ser bajo (<5%), salvo para el caso del Cd (con valores de hasta el 50%). A pesar de los porcentajes usualmente bajos, los valores absolutos de concentración de la fracción soluble/intercambiable para los metales con mayor presencia en el yacimiento (Zn, Pb, Cd, Cu) son elevados, lo que supone un riesgo de lixiviación de estos metales. En adición, la fracción biodisponible (estimada con la extracción de EDTA) resulta elevada para la mayor parte de los metales (con valores de hasta el 80%), por lo que el riesgo potencial de absorción y acumulación de metales en la vegetación colonizadora y su inclusión en la cadena trófica es también importante.

Existe una vegetación adaptada a las condiciones del yacimiento que se extiende por todo el territorio estudiado salvo en dos puntos con concentraciones metálicas extremadamente elevadas (RE1 y RM9). Las especies dominantes en la mina de Rubiais son *B. celtibérica, C. multiflorus, C. scoparius, Hieracium sp*. y *S. atrocinerea*, mientras que *E. arborea, L. corniculatum*, *Rosa sp*. y *T. officinale* se muestran como especies ocasionales. A pesar de que *S. atrocinerea* es frecuente dentro del yacimiento, su presencia parece restringirse a suelos con concentraciones biodisponibles de Zn, Pb y Cd y de Hg total por debajo de 1500, 900, 4.5 y 12 mg kg^{-1}, respectivamente. *Betula celtibérica*, *Hieracium sp*. y principalmente *C. multiflorus* y *C. scoparius,* por el contrario, parecen distribuirse homogéneamente independientemente de la concentración de metales pesados biodisponibles en los suelos. Todas ellas se muestran claramente como especies hipertolerantes a elevadas concentraciones de metales en el sustrato de crecimiento.

La vegetación del yacimiento mostró una amplia variación en el contenido de metales pesados en hojas, con grandes variaciones tanto entre especies como entre individuos, debido probablemente a la elevada heterogeneidad del sustrato y a la variabilidad genética existente. Las concentraciones máximas de los metales contaminantes se detectaron generalmente en *S. atrocinerea*, que mostró 800 mg kg^{-1} Zn, 4.2 mg kg^{-1} Cd y 29 mg kg^{-1} Cu. En el caso del Pb, la concentración máxima se encontró en *C. scoparius* (19 mg kg^{-1}). La relación entre el contenido de metal en planta y la concentración potencialmente biodisponible en el suelo es variable dentro del yacimiento, en función de la especie de planta y del metal considerado. Se encontró una correlación significativa para Cd, Pb y Zn, en el caso de *B. celtibérica*, para Cu y Pb en el caso de *S. atrocinerea* y para Cd, Cr, Hg, Pb y Zn en el caso de *C. scoparius*. La existencia de barreras de absorción o mecanismos de exclusión específicas para cada especie y metal rompen en gran medida, no obstante, la relación existente entre ambas concentraciones.

No se encontraron especies hiperacumuladoras dentro del yacimiento, aunque *B. celtibérica* y principalmente *S. atrocinerea* se mostraron usualmente como especies con una importante acumulación de Zn y Cd. Los Factores de Bioacumulación (FB) de estas especies dentro del yacimiento alcanzan valores de hasta 44 y 30 para Zn y Cd respectivamente, valores comparables a los obtenidos por muchas hiperacumuladoras en condiciones de campo. Esta capacidad de acumulación y la elevada producción de biomasa convierten a estas dos especies arbóreas en potencialmente útiles en procesos de fitoextracción. Por otro lado, especies ampliamente tolerantes a elevados niveles de metales en suelos, como *C. scoparius* y *C. multiflorus*, se muestran generalmente como especies exclusoras de Zn y Cd (FB<1), y podrían resultar muy interesantes en procesos de fitoestabilización y revegetación de suelos contaminados.

5. REFERENCIAS

Adriano, D.C., 2001. "Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals". 2nd Edition. Springer-Verlag New York. Berlin Heidelberg.

Alarcón-Vera, A., 2004. "Diagnóstico agrícola". Cartagena, Spain: Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica de Cartagena.

Alloway B.J., 1995. "Heavy metals in soils". Blackie Academic and Professional Publ., New York.

Allué, A., 1990. "Atlas fitoclimático de España: taxonomías". Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias. Madrid.

Alvarenga, P.M., Araújo, M.F., Silva, J.A.L., 2004. "Elemental uptake and root-leaves transfer in *Cistus ladanifer L.* growing in a contaminated pyrite mining area (Aljustrel-Portugal). Water, Air and Soil Pollution, 152: 81–96.

Alvarez, E., Fernandez Marcos, M.L., Vaamonde, C., Fernandez-Sanjurjo, M.J., 2003. "Heavy metals in the dump of an abandoned mine in Galicia (NW Spain) and in the spontaneously occurring vegetation". Science of the Total Environment, 313: 185–197.

Arias-Prieto, D., 1991. "La caracterización geoquímica y mineralógica del yacimiento de Pb-Zn de Rubiais (Lugo-España)". Laboratorio Xeolóxico de Laxe. Serie NOVA TERRA. Área de Xeoloxía e Minería do Seminario de Estudos Galegos, O Castro.

Asami, T., Kubota, M., Orikasa, K., 1995. "Distribution of different fractions of cadmium, zinc, lead and copper in unpolluted and polluted soils". Water, Air, and Soil Pollution, 83: 187–194.

Aslibekian, O. & Moles, R., 2003. "Environmental risk assessment of metals contaminated soils at silvermines abandonaded mine site, Co Tipperary, Ireland". Environmental Geochemistry and Health, 25: 247–266.

Baker, A.J.M., 1981. "Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to trace metals". Journal of Plant Nutrition, 3: 643–654.

Baker, A.J.M. & Brooks, R.R., 1989. **"**Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry". Biorecovery, 1: 81–126.

Baker, A.J.M., Proctor, J., 1990. "The influence of cadmium, copper, lead and zinc on the distribution and evolution of metallophytes in British Isles". Plant Systematics and Evolution, 173: 91–108.

Basta, N.T., Pantone, D.J., Tabatabai, M.A., 1993. "Path analysis of heavy metal adsorption by soil". Agronomy Journal, 85: 1054-1057.

Basta, N.T., Ryan, J.A., Chaney, R.L., 2005. "Trace element chemistry in residual-treated soil: Key concepts and metal bioavailability". Journal of Environmental Quality, 34: 49–63.

Bell, FP., James, B.R., Chaney, R.L., 1991. "Heavy metal extractability in long-term sewage sludge and metal salt amended soils". Journal of Environmental Quality, 20: 481 –486.

Becerril, J.M., Barrutia, O., García Plazaola, J.I., Hernández, A., Olano, J.M., Garbisu, C., 2007. "Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación". *Ecosistemas*.2007/2(URL:http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=481&Id_Categoria=2&tipo=portada)

Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., Raskin, I., 1997. "Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents". Environmental Science and Technology, 31: 860–865.

B.O.E nº 262, 1990. "Real Decreto 1310/1990, de 29 de Octubre, por el que se regula la utilización de lodos de depuración en el sector agrario".

Bradshaw, A.D. & Chadwick, J., 1980. "The Restoration of Land". Blackwell, Oxford.

Brooks, R.R., 1998. "Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining". CAB International, Wallingford, UK.

Brown, G., Brinkmann, K., 1992. "Heavy metal tolerance in *Festuca ovina* L. from contaminated sites in the Eifel mountains, Germany". Plant and Soil 143: 239–247.

Brümmer, G.W., 1986. "Heavy metal species, mobility and availability in soils". En: Bernhard, M., Brickman, F.E., Sadler, P.J. (eds.), "The importance of Chemical Speciation in Environmental Processes". Springer-Verlag, Berlin.

Buanuam, J., Shiowatana, J., Pongsakulb, P., 2005. "Fractionation and elemental association of Zn, Cd and Pb in soils contaminated by Zn minings using a continuous-flow sequential extraction". Journal of Environmental Monitoring, 7: 778-784.

Buol, S.W., Sanchez, P.A., Cate, R.B., Granger, M.A., 1975. "Soil fertility capability classification for fertility management". En: Bornemisza, E., Alvarado, A., (eds), "Soil management in tropical America", pp. 126 – 141. Raleigh: North Carolina State University.

Carballeira, A., Devesa, C., Retuerto, R., Santillan, E., Ucieda, F., 1983. "Bioclimatología de Galicia". Conde de Fenosa, La Coruña: Fundación Pedro Barrié de la Maza.

Chaney, RL. 1983. "Plant uptake of inorganic waste constituents". En: Parr, J.F., Marsh, P.B., Kla, J.M., (eds.), "Land treatment of hazardous wastes", pp. 50–76. Park Ridge, NJ, USA: Noyes Data Corporation.

Chaves-Padín, R., 2007. "Estudio de la contaminación por metales pesados en un área minera abandonada. Impactos sobre el suelo y las aguas superficiales". Proyecto Fin de Carrera del Máster Oficial en Ingeniería Ambiental.

Chen, H.M., Zheng, C.R., Tu, C., Zhu, Y.G., 1999. "Heavy metal pollution in soils in China: Status and counter measures". Ambio, 28: 130–134.

Clark, M.W., Walsh, S.R., Smith, J.V., 2001. "The distribution of heavy metals in an abandoned mining area; a case study of Strauss Pit, the Drake mining area, Australia: implications for the environmental management of mine sites". Environmental Geology, 6: 655 –663.

Cobertera Laguna, E., 1993. "Edafología aplicada, suelos, producción agraria, planificación territorial e impactos ambientales". Ed. Cátedra, Madrid.

Conesa, H.M., Faz, A., Arnaldos, R., 2006. "Heavy metal accumulation and tolerance in plants from mine tailings of the semiarid Cartagena–La Unión mining district (SE Spain)". Science of the Total Environment, 366: 1–11.

Coppin, N.J. & Bradshaw, A.D., 1982. "The establishment of vegetation in quarries and open pit non-metal mines". Mining Journal Books Ltd, London.

Cox, R.M. & Hutchinson, T.C., 1980. "Multiple metal tolerances in the grass *Deschampsia cespitosa* (L.) Beauv. from the Sudbury smelting area". New Phytologist, 84: 631–647.

Elliott, H.A., Liberati, M.R., Huang, C.P, 1986. "Competitive adsorption of heavy metals by soils". Journal of Environmental Quality, 15: 214-219.

Ernst, W.H.O., 1988. "Response of plant and vegetation to mine tailings and dredged materials". En: Salomons, W. & Forstner, U. (eds.), "Chemistry and Biology of Solid Waste Dredged Material and Mine Tailings", pp. 54–69. Springer-Verlag, New York.

Ewers, W., 1991. "Standards, guidelines and legislative regulatory concerning metals and their compounds". En: Merian, E. (ed.), "Metals and Their Compounds in the Environment", pp. 707–711. VCH Publishers, Weinheim, Germany.

Fleming, G.A. & Parle, P.J., 1974. "Heavy Metal Studies". Soil Research, An Foras Taluntais, Dublin.

Flores-Tavizón, E., Alarcón-Herrera, M.T., González-Elizondo, S., Olguín, E.J., 2003. "Arsenic tolerating plants from mine sites and hot springs in the semi-arid Region of Chihuahua, Mexico". Acta Biotechnologica, 23: 113–119.

Freedman, B., 1995. "Environmental Ecology - The Ecological Effects of Pollution Disturbance and Other Stresses". Academic Press, London.

Greger, M. & Landberg, T., 1999. "Use of willow in phytoextraction". International Journal of Phytoremediation, 1: 115–123.

Greger, M., Landberg, T., Berg, B., 2001. "*Salix* clones with different properties to accumulate heavy metals for production of biomass". Akademitryck AB, Edsbruk, Sweden.

Greger, M., 2005. "Influence of willow (*Salix viminalis* L.) roots on soil metal chemistry: Effects of clones with varying metal uptake potential". En: Huang, P.M. & Gobran, G.R. (eds.), "Biogeochemistry of trace elements in the rhizosphere", pp. 301-312. Elsevier.

Guerinot, M.L. & Salt, D.E., 2001. "Fortified foods and phytoremediation. Two sides of the same coin". Plant Physiology, 125: 164–167.

Guitian Ojea, F. & Carballas Fernández, T., 1975. "Técnicas de análisis de suelos". Ed. Pico Sacro, Santiago de Compostela.

Haygarth, P.M., & Jones, K.C., 1992. "Atmospheric deposition of metals to agricultural surfaces". En: Adriano, D.C. (ed.) "Biogeochemistry", pp. 249–276. Boca Raton: Lewis Publishers.

Henriques, F.S. & Fernández, J.C., 1991. "Metal uptake and distribution in rush (*Juncus conglomeratus L*.) plants growing in pyrites mine tailings at Lousal, Portugal". Science of the Total Environment, 102: 253–260.

Huang, J.W., Chen, J.J., Berti, W.B., Cuningham, S.D., 1997. "Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction". Environmental Science & Thecnology, 31: 800-805.

Johnson, M.S., Cooke, J.A., Stevenson, J.K.W., 1994. "Revegetation of metalliferous wastes and land after metal mining". En: Hester, R.E. & Harrison, R.M. (eds.), "Mining and its Environmental Impact", pp. 31–48. Issues in Environmental Science and Technology, Royal Society of Chemistry, London.

Kabata-Pendias, A., & Pendias, H., 1984. "Trace elements in soils and plants". Boca Raton, FL: CRC Press, Inc.

Kraemer, S.M. & Hering, J.G., 2004. "Biogeochemical controls on the mobility and bioavailability of metals in soils and groundwater". Aquatic Sciences, 66: 1–2.

Krämer, U., 2005. "Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils". Current Opinion in Biotechnology, 16: 133–141.

Lakanen, E. & Ervio, R., 1971. "A comparison of eight extractans for the determination of plant available micronutrientsin soils". Acta Agralia Fennica, 123: 223-232.

Leiros, M.C., Gil, F., Carballas, M., Codesido, C., González-Sangregorio, M.V., Seoane, S., Guitian Ojea, F., 1989. "Recuperación de las escombreras de minas de lignito en Galicia 1: Caracterización de los materiales estériles". Anales de Edafología y Agrobiologia, 48: 85 –100.

Leita, L., De Nobili, M., Pardini, G., Ferrari, F., Sequi, P., 1989. "Anomalous contents of heavy metals in soils and vegetation of a mine area in S. W. Sardinia, Italy". Water, Air and Soil Pollution, 48: 423–433.

Lopes, I, Baird, D.J., Ribeiro, R., 2005 "Resistance to metal contamination by historically-stressed populations of *Ceriodaphnia pulchella*: Environmental influence versus genetic determination". Chemosphere, 61: 1189–1197.

Lombi, E., Zhao, F.J., Dunham, S.J., McGrath, S.P, 2000. "Cadmium accumulation in populations of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi goesingense*". New Phytologist, 145: 11-20.

Luo, Y.M. & Christie, P., 1998. "Bioavailability of copper and zinc in soils treated with alkaline stabilized sewage sludges". Journal of Environmental Quality, 27: 335–342.

Ma, L.Q., Komar, K.M., Tu, C., Zhang, W.H., Cai, Y., Kennelley, E.D., 2001. "A fern that hyperaccumulates arsenic — a hardy, versatile, fast growing plant helps to remove arsenic from contaminated soils". Nature 2001, 409:579.

Macnair, M.R., 1987. "Heavy metal tolerance in plants: a model evolutionary system". Trends in Ecology and Evolution, 2: 354–359.

Macnair, M.R., 1990. "The genetics of metal tolerance in natural populations". En: Shaw, A.J., (ed.), "Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects", pp. 235–253. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.

Macnair, M.R., 1993. “The genetics of metal tolerance in vascular plants”. New Phytologist, 124: 541–559.

Macnair, M.R., 2003. “The hyperaccumulation of metals by plants”. Advances in Botanical Research, 40: 63–105.

Madrid, L. & Díaz-Barrientos, E., 1992. “Influence of carbonate on the reactions of heavy metals in soils”. Journal of Soil Science, 43: 709–721.

Marschner, H., 1995. "Mineral nutrition of higher plants". 2nd edition. Academic Press.

Martínez, C.E. & Motto, H.L., 2000. “Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils”. Environmental Pollution, 107: 153-158.

Martínez Cortizas, A. & Perez-Alberti, A., 1999. “Atlas Climático de Galicia”. Consellería de Medio Ambiente. Xunta de Galicia.

Mattina, M.I., Lannucci-Berger, W., Musante, C., White, J.C., 2003. “Concurrent plant uptake of heavy metals and persistent organic pollutants from soil”. Environmental Pollution, 124: 375–378.

McBride, M.B., 1994. “Environmental Chemistry of Soils”. Oxford University Press, New York.

McGrath, S.P. & Zhao, F.J., 2003. “Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils”. Current Opinion in Biotechnology, 14: 277–282.

McKenzie, R.M., 1989. “Manganese oxides and hydroxides”. En Dixon, J.B. & Weed, S.B., (eds.), “Minerals in soil environments”, pp. 439–466. 2nd ed. SSSA Book Ser. 1. SSSA, Madison, WI.

Melendo, M., Benítez, E., Nogales, R., 2002. “Assessment of the feasibility of endogenous Mediterranean species for phytoremediation of lead contaminated areas”. Fresenius Environmetal Bulletin, 11: 1105–1109.

Mench, M.J., Martin, E., Solda, P., 1994. “After effects of metals derived from a highly metal-polluted sludge on maize (*Zea mays* L.)”. Water, Air and Soil Pollution, 75: 277–291.

Merian, E., 1991. “Metals and Their Compounds in the Environment: Occurrence, Analysis and Biological Relevance”. VCH, Cambridge.

Merino García, A., Monterroso Martínez, C., García-Rodeja, E., 1989. “Contenido de S total en muestras superficiales de suelos de la provincia de La Coruña”. Anales de Edafología y Agrobiología: 615-626.

Molitor, M., Dechamps, C., Gruber, W., Meerts, P., 2005. “*Thlaspi caerulescens* on non metalliferous soil in Luxembourg: ecological niche and genetic variation in mineral element composition”. New Phytologist, 165: 503–512.

Montero de Burgos, J.L. & González Rebollar, J.L., 1983. “Diagramas bioclimáticos”. ICONA. Madrid.

Monterroso Martínez, C., 1995. “Caracterización de los procesos edafogeoquímicos en una escombrera de estériles de lignito en proceso de restauración ambiental”. Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela – Departamento de Edafología y Química Agrícola.

Monterroso, C., Alvarez, E., Fernandez-Marcos, M.L., Macías, F., 1999. “Evaluation of Mehlich 3 reagent as a multielement extractant in mine soils”. Land Degradation & Development, 10: 35 –48.

Morera, M.T., Echeverría, J.C., Mazkiarán, C., Garrido, J.J., 2001. “Isotherms and sequential extraction procedures for evaluating sorption and distribution of heavy metals in soils”. Environmental pollution, 113: 135-144.

National Research Council, 2003. “Bioavailability of Contaminants in Soils and Sediments: Process, Tools and Applications”. The National Academies Press, Washington, DC http://fermat.nap.edu/books/0309086256/html (accessed 20.04.06.).

Narwal, R.P., & Singh, B.R., 1998. “Effect of organic materials on partitioning, extractability and plant uptake of metals in an alum shale soil”. Water, Air and Soil Pollution, 103: 405–421.

Norland, M.R & Veith D.L., 1995. “Revegetation of coarse taconite iron ore tailing using municipal waste compost”. Journal of Hazardous Materials, 41(2-3): 123–134.

Pagés Valcarlos, J.L., 1993. "Las alteraciones ambientales en sistemas naturales provocadas por la minería metálica ".Cuadernos del Laboratorio Xeolóxico de Laxe, 18: 289-306.

Peech, M., Alexander, L.T., Dean, L.A., Deed, J.F., 1947. "Methods of soils analysis for soil fertility investigatons". United States Department of Agriculture - Cir. 757. U.S. Gov. Print. Office, Washington, DC.

Perez, A. & Calvo, R., 1992. "Soil pollution in copper sulphide mining areas in Galicia (NW Spain)". Soil Technology, 5: 271–281.

Peris, M., Micó, C., Recatalá, L., Sánchez, R., Sánchez, J., 2007. "Heavy metal contents in horticultural crops of a representative area of the European Mediterranean region". Science of the Total Environment, 378: 42–48.

Pichtel, J.R., Dick, W.A., Sutton, P., 1994. "Comparison of amendments and management practices for long-term reclamation of abandoned mine lands". Journal of Environmental Quality, 23: 766–772.

Pueyo, M., Mateu, J., Rigol, A., Vidal, M., López-Sánchez J.F., Rauret, G., 2007. "Use of the modified BCR three-step sequential extraction procedure for the study of trace element dynamics in contaminated soils" Environmental Pollution, 24: 1-12.

Quintas, I., 1997. "Caracterización y posibilidades de recuperación de antrosoles de canteras y minas de Galicia". Ph.D. Thesis. Universidad de Santiago de Compostela.

Rauret, G., López-Sánchez, J.F., Sauquillo, A., Rubio, R., Davidson, C.M., Ure, A.M., Quevauviller, P.H., 1999. "Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials". Journal of Environmental Monitoring, 1: 57–61.

Reeves, R.D. & Baker, A.J.M., 2000. "Metal-accumulating plants". En: Raskin, I. & Ensley, B.D., (eds.), "Phytoremediation of toxic metals. Using plants to clean up the environment", pp. 193 –230. New York: Wiley.

Ristic, R., Kadovic, R., Knezevic, M., Nikic, Z., Belanovic, S., 2001. "Heavy metals in soil and possibility of pollution of water resources". En: Djukic, A., (ed.), "Water pollution control 2001: the 30th Annual Conference of Yugoslav Water Pollution Control Society". Conference Proceedings. Yugoslavia, 2001.

Rivas Martínez, S., 1987. "Memoria del Mapa de Series de Vegetación de España". Serie Técnica nº1. ICONA. Madrid.

Rivas Martínez, S. & Loidi, J., 1999. "Bioclimatology of Iberian Peninsula". Itinera Geobotanica, 13: 41-47.

Ross, S.M., 1994. "Toxic metals in soil–plant systems". John Wiley & Sons; Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore.

Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I., 1998. "Phytoremediation". Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49: 643–668.

Sanchez, P.A., Couto, W., Buol, S.W., 1982. "The fertility capability soil classification system: interpretation, applicability and modification". Geoderma, 1982: 283 –309.

Schat, H. & Vooijs, R., 1997. "Multiple tolerance and co-tolerance to heavy metals in *Silene vulgaris*: a co-segregation analysis". New Phytologist, 136: 489–496.

Shu, W.S., 1997. "Revegetation of Lead/Zinc Mine Tailings". Ph.D. Thesis, Zhongshan University, Guangzhou, P.R. China.

Shu, W.S., Ye, Z.H., Lan, C.Y., Zhang, Z.Q., Wong, M.H., 2002. "Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*". Environmental Pollution, 120: 445–453.

Sims, J.T. & Johnson, G.V., 1991. "Micronutrients soil tests". En: Mortvedt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M., Welch, R.M., (eds.), "Micronutrients in Agriculture, vol. 4", pp. 427–476. Soil Science Society of America Inc., Madison, Wisconsin, United States, second ed.

Sims, J.T. & Kline, J.S., 1991. "Chemical fractionation and plant uptake of heavy metals in soils amended with co-composted sewage sludge". Journal of Environmental Quality, 20: 387 –395.

Skinner, B.J., 1976. “Earth Resources”. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, NJ, 2nd edn.

Smith, R.A.H. & Bradshaw, A.D., 1979. “The use of metal tolerant plant populations for the reclamation of metalliferous wastes”. Journal of Applied Ecology, 16: 595–612.

Stahl, R.S. & James, B.R., 1991. “Zinc sorption by B horizon soils as a function of pH”. Soil Science Society of America Journal, 55: 1592-1597.

Symeonidis, L., McNeilly, T., Bradshaw, A.D., 1985. **“**Differential tolerance of three cultivars of *Agrostis capillaris* L. to cadmium, copper, lead, nickel and zinc”. New Phytologist, 101: 309–315.

Taboada Castro, M.T. & Silva Hermo, M.B., 1999. “Factores de formación y propiedades de los suelos formados sobre calizas en Galicia”. Cuadernos del Laboratorio Xeolóxico de Laxe, 24: 121-139.

Taylor, R.N., Ibeabuchi, I.O., Sistani, K.R., Shuford, J.W., 1992. “Accumulation of some metals by legumes and their extractability from acid mine spoils”. Journal of Environmental Quality, 21: 176 –180.

Taylor, R.N., Ibeabuchi, I.O., Sistani, K.R., Shuford, J.W., 1993. “Heavy metal concentration in forage grasses and extractability from some acid mine spoils”. Water, Air and Soil Pollution, 68: 363 – 372.

Tietjen, C., 1975. “Principal problems of the use of city wastes for crop production and soil conservation”. FAO Soils Bulletin, 27: 221 –226.

Tiller, K.G., 1989. "Heavy metals in soils and their environmental significance". Advances in soil Science, Volume 9. Springer-Verlag New York Inc.

Tordoff, G.M., Baker, A.J.M., Willis, A.J., 2000. “Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous wastes”. Chemosphere, 41: 219–228.

Tu, C., Ma, L.Q., Bondada, B., 2002. “Arsenic accumulation in the hyperaccumulator Chinese brake and its utilization potential for phytoremediation”. Journal of Environmental Quality, 31: 1671-1675.

Ullrich, S.M., Ramsey, M.H., Helios-Rybicka, E., 1999. “Total and exchangeable concentrations of heavy metals in soils near Bytom, an area of Pb/Zn mining and smelting in upper Silesia, Poland”. Applied Geochemistry, 14: 187–196.

U.S.D.A (United States Department of Agriculture), 2005. “Natural Resources Conservation Service. National Soil Survey Handbook, 2005; title 430-VI.” [Online] http://soils.usda.gov/technical/handbook/ (1 December 2005).

Vandecasteele, B., Meers, E., Vervaeke, P., De Vos, B., Quataert, P., Tack, F.M.G., 2002. **“**Growth and trace metal accumulation of two *Salix* clones on sediment-derived soils with increasing contamination levels”. Chemosphere, 58: 995-1002.

Vandecasteele, B., Quataert, P., De Vos, B., Tack, F.M.G., 2004. “Assessment of the pollution status of alluvial plains: a case-study for the dredged sediment-derived soils along the Leie river”. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 47: 14-22.

Vysloužilová, M., Tlustoš, P., Száková, J., 2003. “Cadmium and zinc phytoextraction potential of seven clones of *Salix* spp. planted on heavy metal contaminated soils”. Plant Soil and Environment, 49(12): 542–547.

Whiting, S.N., Reeves, R.D., Richards, D.G., Johnson, M.S., Cooke, J.A., Malaisse, F., Paton, A., Smith, J.A.C. Angle, J.S., Chaney, R.L., Ginocchio, R., Jaffré, T., Johns, B., McIntyre, T., Purvis, O.W., Salt, D.E., Schat, H., Zhao, F.J., Baker, A.J.M., 2005. “Use of plants to manage sites contaminated with metals”. En: Broadley, M.R. & White, P.J., (eds.) “Plant nutritional genomics”, pp 287–315. Oxford, UK: Blackwell Publishing.

Wilson, B., Pyatt, F.B., 2007. “Heavy metal dispersion, persistance, and bioccumulation around an ancient copper mine situated in Anglesey, UK”. Ecotoxicology and Environmental Safety, 66: 224–231.

Wong, J.W.C., Ip, C.M., Wong, M.H, 1998. “Acid-forming capacity of lead–zinc mine tailings and its implications for mine rehabilitation”. Environmental Geochemestry and Health, 20: 149–55.

Wong, M.H., 2003. “Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils”. Chemosphere, 50: 775–780.

Wu, L., 1990. “Colonization and establishment of plants in contaminated environments”. En: Shaw, A.J. (ed.), “Heavy Metal Tolerance in Plants, Evolutionary Aspects”, pp. 269–284. CRC Press, Boca Raton, FL.

Xunta de Galicia, 2005. “Plan de Ordenación de los Recursos Naturales. Espacio Natural Protegido Os Ancares-O Courel”. Dirección Xeral de Conservación da Natureza, Consellería de Medio Ambiente.

Xunta de Galicia. Mapa topográfico 1:5000, hoja 125-84. Consellería de Política Territorial, Obras Públicas e Vivenda. Dirección Xeral de Urbanismo.

Ye, Z.H., Shu, W.S., Zhang, Z.Q., Lan, C.Y., Wong, M.H., 2002. “Evaluation of major constraints to revegetation of lead/zinc mine tailings using bioassay techniques”. Chemosphere, 47: 1103–1111.

Zar, J. M., 1984. "Biostatistical análisis". 2nd edition. Prentice-Hall International Editions.

Zauner, G., Monn, L., Stahr, K. 1999. “Heavy metals in soils-forecast of the mobility of cadmium and zinc”. VDLUFA-Schriftenr, 52: 521-524.

Zhao, F.J., Lombi, E., McGrath, S.P., 2003. “Assessing the potential for zinc and cadmium phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens”*. Plant and Soil, 249: 37-43.

CAPÍTULO 4

OPTIMIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Cistus ladanifer* EN SUELOS DE MINA. EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN Y DE LA MODIFICACIÓN DEL pH EN EL SUELO

Resumen:

Cistus ladanifer L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae) es una especie capaz de crecer en suelos altamente degradados y de acumular cantidades apreciables de ciertos metales en sus tejidos aéreos. En el presente trabajo se evaluó, mediante ensayos de invernadero, el efecto de la fertilización con N/P y de la modificación de pH del sustrato sobre el crecimiento de *C. ladanifer* en suelos procedentes de una escombrera de mina, relacionándolo con una posible mejora de los procesos de revegetación y fitocorrección. En total se probaron 16 tratamientos diferentes de fertilización N/P, consistentes en todas las combinaciones posibles de la adición de 0, 10, 25 y 50 mg kg^{-1} de N y de 0, 10, 15 y 30 mg kg^{-1} de P. Complementariamente, se llevaron a cabo 4 tratamientos de acidificación mediante la adición de diferentes dosis de H_2SO_4, consiguiendo unos valores de pH finales en el sustrato en torno a 4, 5, 6 y 7. Las semillas de *C. ladanifer* utilizadas en los ensayos se recogieron de dos poblaciones diferentes de la zona de Tras-Os-Montes (Portugal), una originaria de un área serpentinítica (S) y otra originaria de un área esquistosa (SC). El efecto de la fertilización sobre el crecimiento de *C. ladanifer* en suelos de mina fue significativo ($P<0.05$), sobre todo la adición de N que supuso un incremento de la biomasa aérea de hasta 13-20 veces (dependiendo de la población). Así mismo, el tratamiento de pH 5 supuso una mayor producción de biomasa aérea, mientras que en los tratamientos de mayor pH (pH 6-7) la biomasa producida fue hasta 3 veces menor, probablemente a causa de la menor disponibilidad de nutrientes. Ninguno de los tratamientos de fertilización influyó de manera significativa ($P<0.05$) sobre las fracciones de metales potencialmente biodisponibles para las plantas (extraído en EDTA), aunque sí existió un efecto significativo ($P<0.05$) del pH del sustrato de crecimiento. Ni, Zn y Mn mostraron un incremento de su biodisponibilidad de hasta 2 veces en los sustratos más ácidos, con un máximo a pH 5. Cu y Pb no presentaron el mismo comportamiento, y en el caso del Pb, contrariamente, tendió a incrementar su biodisponibilidad con el incremento de pH. En ningún caso la biodisponibilidad de metales en el sustrato se correlacionó significativamente ($P<0.05$) con la acumulación de metales en la parte aérea de *C. ladanifer*. La fertilización con N se relacionó con una reducción de la concentración de metales en la parte aérea de *C. ladanifer*, probablemente por un efecto de dilución al incrementarse la biomasa. Este hecho se acentuó en los casos de Co y Ni, cuya concentración en la parte aérea llegó a reducirse con la adición de N (50N) entre un 70-80% en la población S. El pH del sustrato también afectó a la acumulación de Co, Mn y Zn, con valores hasta 5, 20 y 3 veces superiores a pH ácidos (pH 4- 5) en la población SC. El aumento del crecimiento de *C. ladanifer* y la menor concentración de metales en su parte aérea tras la adición de dosis elevadas de N (50N) podría suponer una mejora de los procesos de revegetación y fitoestabilización de suelos altamente degradados mediante el uso de esta especie. Por otra parte, el elevado incremento de biomasa con la adición de N (50N) compensó la reducción de la concentración de algunos de los metales, pudiéndose llegar a incrementar la capacidad de fitoextracción hasta 10 veces (Zn y Mn). Así mismo, la acidificación de los suelos (pH<6) provocó un mejor crecimiento de *C. ladanifer*, principalmente de la población S, y una mayor acumulación de metales, incrementándose normalmente entre 3 y 6 veces la capacidad de fitoextracción, con un máximo en los casos de Mn y Zn a pH 5.

1. INTRODUCCIÓN

Cistus ladanifer L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae) es un arbusto ampliamente distribuido por la región mediterránea occidental que es capaz de crecer en diversas latitudes, altitudes y climas del NW de Europa. Su gran tolerancia y adaptabilidad a diferentes tipos de suelos la convierte en una especie pionera en la ocupación de suelos esqueléticos ligeramente ácidos en áreas de baja pluviosidad (Bolaños & López, 1949). En adición, se trata de una especie pseudometalófita capaz de colonizar ambientes en donde existen altos niveles de metales pesados en los suelos, como áreas serpentiníticas (Alados et al., 1999; Diez et al., 2006) o terrenos degradados actividades mineras (Albarenga, 2003; Pratas et al., 2005; Murciego et al., 2007). En concordancia con el grado de biodisponibilidad de los metales en el suelo, *C. ladanifer* presentó una acumulación acusada de Mn y Zn en poblaciones recogidas sobre suelos ácidos derivados de esquistos, con concentraciones en hoja de hasta 2000 y 300 mg kg^{-1} respectivamente, mientras que presentó cierta acumulación de Cr en poblaciones recogidas sobre suelos derivados de rocas ultrabásicas (peridotitas), con un máximo de 128 mg kg^{-1} en hoja (Diez et al., 2006). Experimentos llevados a cabo sobre disoluciones hidropónicas corroboraron, en adición, que *C. ladanifer* podría acumular altos niveles de Cd, Co, Mn, Ni y Zn (por encima del 1%) en su parte aérea (Kidd et al., 2004).

El establecimiento y crecimiento de este tipo de especies vegetales en suelos degradados se ve limitado, no obstante, no sólo por el grado de contaminación en metales pesados, sino por otras condiciones tales como el bajo contenido en nutrientes, la acidez, salinidad o la baja capacidad de retención de agua. En este sentido, la adición de enmiendas podría mejorar las condiciones del suelo y contribuir a mejorar el establecimiento y crecimiento de las plantas, mejorando subsecuentemente los procesos de fitoestabilización y/o fitoextracción de metales pesados. Conesa et al. (2007), por ejemplo, comprobaron como la fertilización de suelos de mina neutros favorecía el establecimiento y crecimiento de diferentes especies silvestres; y Chen & Wong (2006) mejoraron el crecimiento de *Agropyron elongatum* en suelos ácidos contaminados en Ni mediante el encalado, proponiendo este tipo de tratamientos en procesos de fitoestabilización. Asimismo, también se ha utilizado fertilizantes con N/P/K/S o agentes acidificantes para incrementar la producción de biomasa de algunas plantas hiperacumuladoras, en ocasiones sin que la acumulación de metal en la parte aérea se vea afectada significativamente o incluso viéndose favorecida, mejorando el proceso de fitoextracción (Robinson et al., 1997; Kidd & Monterroso, 2003; Kidd & Monterroso, 2005; Li et al., 2003b; Wang et al., 2006).

El empleo de enmiendas como la fertilización o la acidificación/encalado, además de provocar efectos sobre el crecimiento de las plantas, puede provocar diferentes efectos sobre la movilidad, biodisponibilidad y absorción de los metales por parte de las raíces en los suelos contaminados, al interferir en su equilibrio físico-químico (Lasat, 2000). En referencia al uso de fertilizantes, Wu et al. (2004) encontraron, por ejemplo, que la adición de nutrientes provocaba

una estimulación significativa no sólo del crecimiento de *Brassica juncea*, sino también de la absorción de contaminantes y por tanto de la cantidad fitoextraída del suelo. De manera similar, Schwartz et al. (2003), comprobaron que la absorción de Cd se incrementó de 0.03 mg en plantas no fertilizadas a 0.1 mg en plantas fertilizadas con 200 mg N kg^{-1} de suelo seco (añadido como $NaNO_3$). La adición de fertilizantes con NH_4^+ puede provocar, así mismo, un incremento de la biodisponibilidad y absorción de metales por parte de las plantas así como un mayor riesgo ambiental por la producción de lixiviados contaminados (Brown et al., 1994; Mitchell et al, 2000). El uso de fosfatos, por el contrario, puede favorecer el proceso de fitoestabilización al provocar la inmovilización de determinados metales en los suelos contaminados, como el Pb, que precipita como piromorfita y cloropiromorfita (Chaney et al., 2000; Ma et al., 1995; Ma & Rao, 1999; Cao et al., 2002), y reducir su absorción por las plantas (Laperche et al., 1997; Cao et al., 2002; Fayiga et al., 2006).

En cuanto a las variaciones de pH del suelo, la acidificación se plantea como una estrategia para inducir la fitoextracción, debido a que diferentes estudios muestran una correlación negativa entre el pH del suelo y la absorción de metales (Castilho & Chardon, 1995; Narwal et al., 1983). Sin embargo, los diferentes suelos, así como los diferentes metales y especies de plantas, varían en su respuesta a los tratamientos de acidificación y debe existir diferentes valores de pH óptimos para la fitoextracción en cada caso. Wang et al. (2006), por ejemplo, investigaron el efecto de la acidificación del suelo en la fitoextracción de Zn y Cd por la planta hiperacumuladora *Thlaspi caerulescens*, y comprobaron que al incrementarse la biodisponibilidad de metales en los suelos se ve favorecido el proceso, aunque ello pudiera inducir fitotoxicidad de Al o Mn (Brown et al., 1995, Wang et al, 2006). Contrariamente, en trabajos relacionados con la optimización de la fitoextracción de Ni con especies del género *Alyssum*, se observó consistentemente un mayor crecimiento y una mayor acumulación de Ni en la parte aérea con el incremento del pH (Everhart et al., 2006, Kukier et al, 2004; Li et al., 2003a; Kidd et al., 2007), a pesar de que para otras especies la disponibilidad de Ni se reduce (Crooke, 1956; Frank et al., 1982; Bisessar, 1989; Kukier & Chaney, 2001). El incremento del pH de los suelos mediante la adición de distintos compuestos, como cal (CaO) o hidroxiapatito ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), se ha utilizado en numerosas ocasiones para inducir una inmovilización de metales pesados y una reducción de su biodisponibilidad, al afectar a los procesos involucrados en el intercambio de iones y en el incremento de superficies complejantes de los suelos contaminados (Cao et al., 1993; Hooda & Alloway, 1996). Complementariamente, este tipo de enmiendas parece favorecer el crecimiento de determinadas especies tolerantes, por lo que son habitualmente utilizadas en procesos de fitoestabilización en combinación con diferentes especies vegetales (Chlopecka & Adriano, 1996a,b; Boisson et al., 1999; Chen & Wong, 2006; Clemente et al., 2006; Conesa et al., 2007; Simon, 2005).

En cualquier caso, el manejo agrícola de las plantas debe considerarse un área de gran importancia en el estudio de los procesos de fitocorrección de metales pesados (fitoestabilización/fitoextracción), a modo de complemento de las investigaciones referentes a la absorción de metales, transporte y tolerancia. Ello debe traducirse en una mejora sustancial de la eficiencia del proceso con determinadas especies, en una reducción del número de cosechas necesarias para descontaminar un suelo por fitoextracción, y en una reducción del coste. El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización con distintas dosis de N y P y de la variación del pH del suelo sobre la producción de biomasa y la acumulación de metales en la parte aérea de dos poblaciones diferentes de *C. ladanifer* (originarias de un área serpentinítica y un área esquistosa, respectivamente) creciendo en un suelo de mina. En adición, se considerarán las posibles implicaciones que ello tiene sobre los procesos de fitocorrección de suelos contaminados con *C. ladanifer*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Sustrato de crecimiento

El sustrato utilizado en los ensayos procede de la escombrera de la mina de lignito ubicada en As Pontes, en el NW de España (43º 27´N 7º 15´W). Esta escombrera alberga un gran volumen de estériles que fue extraído durante la mayor explotación a cielo abierto de lignito de España, y se encuentra actualmente en proceso de restauración. El material escombrado está constituido por sedimentos terciarios estériles, intercalados entre las capas de carbón explotables, por filitas del borde de la cuenca, que fueron excavados por razones de estabilidad geotécnica, y por cenizas y escorias procedentes de la central térmica. Algunos materiales cuaternarios y capas superficiales de suelos también se apilaron utilizándose para la mejora de las superficies externas (Monterroso, 1995).

Se trata de un sustrato alcalino (pH=8.9), pobre en determinados nutrientes (0.6% C, <0.1% N, 25.6 mg P kg^{-1}) y con una baja capacidad de intercambio de cationes efectiva (CICe= 9.9 cmol(+) kg^{-1}). El complejo de cambio está dominado por el Ca^{+2} (9 cmol(+) kg^{-1}), con una relación Ca^{+2}:Mg^{+2} en torno a 11, existiendo una deficiencia severa de K^{+} (0.06 cmol(+) kg^{-1}) y un escaso contenido en Na^{+} (0.04 cmol(+) kg^{-1}), lo que demuestra la inexistencia de salinidad. El contenido total de metales pesados (31.7 mg Co kg^{-1}, 94.9 mg Cr kg^{-1}, 32.3 mg Cu kg^{-1}, 552.5 mg Mn kg^{-1}, 174.2 mg Ni kg^{-1} y 115 mg Zn kg^{-1}) no supera generalmente los límites establecidos en el R.D 1310/1990 (B.O.E nº 262, 1990), salvo en el caso del Ni (considerando que el sustrato va a ser acidificado). En base a ello, el material utilizado como sustrato de crecimiento de *C. ladanifer* puede ser considerado de “no contaminado” a “ligeramente contaminado” en metales como Ni.

Tratamientos de fertilización (N/P)

Sobre el sustrato recolectado se llevó a cabo un total de 16 tratamientos diferentes de fertilización definidos por diferentes dosis de N y P. Los tratamientos de N fueron 0 (CONTROL), 10 (10N), 25 (25N) y 50 (50N) mg N kg^{-1} en forma de NH_4NO_3, que se combinaron con tres adiciones diferentes de P: 10 (10P), 15 (15P) y 30 (30P) mg P kg^{-1} en forma de $Na_2PO_4.2H_2O$. El pH de las mezclas resultantes fue modificado mediante la adición de H_2SO_4 hasta alcanzar un valor aproximado de 5.5 y almacenadas entre 3 y 4 semanas en condiciones de humedad hasta la consecución de un equilibrio. Antes de repartir el material resultante en macetas de 0.3 kg, se añadió perlita en una proporción 6:1 (suelo:perlita) para mejorar la aireación y evitar una excesiva compactación del sustrato.

Tratamientos de acidificación

En un segundo ensayo se procedió a una modificación del pH del material recolectado mediante la adición de diferentes dosis de H_2SO_4, hasta quedar representado un amplio intervalo de acidez en los suelos (4-7). Los tratamientos finales de pH supusieron unos valores de 4.3, 5.5, 6.4 y 7.3, respectivamente. En cada uno de los tratamientos de pH los suelos fueron fertilizados con un nivel óptimo de N y P para el crecimiento de *C. ladanifer*, conforme a los resultados obtenidos en el ensayo de fertilización (50N0P). Los sustratos de crecimiento resultantes fueron almacenados entre 3 y 4 semanas y mezclados con perlita en una proporción 6:1 (suelo:perlita) como paso previo a la plantación de *C. ladanifer*.

Material vegetal y condiciones de crecimiento

Las semillas de *C. ladanifer* utilizadas en este trabajo fueron recolectadas en Julio de 2001 en el área de Tras-Os-Montes (NE de Portugal). Las semillas procedían de dos poblaciones diferentes seleccionadas en base a su capacidad de acumular determinados metales (Kidd et al., 2004; Diez et al., 2006), siendo originarias por un lado de suelos derivados de serpentinitas (S) y por otro lado de suelos derivados de esquistos (SC). Todas las semillas fueron conservadas en oscuridad a temperatura ambiente hasta la realización de los ensayos.

La germinación de un número suficiente de semillas se llevó a cabo en un semillero en condiciones adecuadas de irrigación y luz. Las plántulas de un mes de edad fueron transplantadas a las macetas con los sustratos de crecimiento preparados con los diferentes tratamientos. En el experimento de fertilización se realizaron un total de 10 réplicas por población y tratamiento de N/P (320 macetas). En el experimento de pH se obtuvieron 8 réplicas por población de *C. ladanifer* y por tratamiento de pH (64 macetas). En ambos ensayos se sustituyeron los individuos muertos durante los primeros 10 días desde el transplante. Todas las plantas se mantuvieron durante 16 semanas en un invernadero en régimen natural día/noche y con riego periódico con agua destilada para mantener el sustrato en condiciones adecuadas de humedad.

Análisis de suelos y plantas

Las réplicas de los suelos y plantas correspondientes a cada tratamiento de fertilización y población de *C. ladanifer* fueron mezcladas aleatoriamente por parejas antes de la realización de los diferentes análisis, debido a la escasa biomasa alcanzada por algunos de los individuos. De esta manera se redujeron las 10 réplicas iniciales de cada uno de los tratamientos y poblaciones hasta un total de 5 réplicas finales. En el experimento de pH no fue necesario este tipo de mezclas entre réplicas.

El pH del suelo (fracción < 2mm) fue medido en agua y en una disolución 0.1M de KCl, utilizando una relación suelo:disolución de 1:2.5. Los cationes del complejo de cambio (Ca^{+2}, Mg^{+2}, Na^{+}, K^{+} y Al^{+3}) fueron extraídos con una disolución 1M de NH_4Cl (Peech et al., 1947), y determinados por espectroscopía de absorción/emisión atómica (AAS, Perkin–Elmer 1100B, Norwalk, CT). El contenido en C y N de los suelos se obtuvo por combustión de muestra molida con un analizador LECO (Modelo SC-144 DR, LECO, St Joseph, MI). El contenido total en metales (Co_T, Cr_T, Cu_T, Mn_T, Ni_T, Pb_T y Zn_T) fue determinado mediante una digestión de suelo molido con una mezcla de HNO_3-HCl concentrados en un horno microondas y posterior medición por espectroscopia de absorción atómica (AAS, Perkin–Elmer 1100B, Norwalk, CT). En el mismo extracto de digestión del suelo se determinó el contenido total en P (PO_4^{3-}) por colorimetría, usando el método azul-molibdeno (Murphy & Riley, 1962). La fracción de metal disponible para las plantas fue estimada mediante una extracción con 0.5M NH_4OAc + 0.5M HOAC + 0.02M EDTA (relación suelo:disolución de 1:5, pH 4.65, agitación de 2h) (Lakanen & Ervio, 1971; Ervio & Sippola, 1993).

Las plantas fueron separadas en raíz (R), tallo (T) y hojas (H), procediéndose de inmediato a la determinación de distintos parámetros y síntomas de crecimiento: número de hojas (NH) (totales:secas:cloríticas), longitud de tallos (LT), longitud de raíces (LR), peso fresco hojas (PFH) y peso fresco tallo (PFT). Todas las partes fueron lavadas mediante chorro de agua del grifo y posterior inmersión en agua destilada y secadas en una estufa a 60 ºC, obteniéndose posteriormente el peso seco de las hojas (PSH) y el peso seco de los tallos (PST). Este material vegetal, seco y triturado, se digirió en una mezcla de ácidos concentrados (HNO_3+HCl) en un digestor de calor, para la posterior determinación de metales (Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) por espectrofotometría de absorción/emisión atómica de llama (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT).

Tratamiento estadístico

Todos los análisis estadísticos realizados fueron llevados a cabo mediante la utilización del programa SPSS 12.0. La comparación entre poblaciones se realizó mediante el método de la t de Student para muestras independientes ($P<0.05$). Los parámetros de crecimiento y concentración de metales de las plantas dentro de cada tratamiento de fertilización/pH fueron comparados mediante un análisis de varianza de un factor (ANOVA) ($P<0.05$). Mediante el test

"post-hoc" Scheffe se realizó una comparación múltiple de medias, y las relaciones entre parámetros fueron determinadas mediante un análisis de correlación, con la comparación del coeficiente de correlación de Pearson (P<0.05/P<0.01).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Crecimiento de C. ladanifer en suelos de mina

Ambas poblaciones de *C. ladanifer* (S y SC) fueron capaces de crecer y sobrevivir en los suelos de escombrera de mina sin ningún tipo de fertilización (control), lo que refleja la amplia adaptabilidad de esta especie y su posible eficacia en la revegetación de suelos degradados. La fertilización del sustrato, no obstante, causó un efecto positivo (P<0.05) sobre el crecimiento de *C. ladanifer*. En la figura 1 se resumen algunos de los parámetros de crecimiento obtenidos en las dos poblaciones (S/SC) en función de los tratamientos de fertilización realizados sobre los sustratos. Generalmente, todos los parámetros de crecimiento registrados estuvieron estrechamente relacionados entre sí, mostrando unos índices de correlación de Pearson entre 0.7-0.9, ampliamente significativos (P<0.01). La longitud de las raíces (LR) se mostró como una excepción y no presentó la misma tendencia, probablemente influido por el amplio margen de error asociado a la dificultad de extracción de la raíz sin que se produzcan fracturas y pérdidas de tejido. LR mostró un amplio rango entre 1.7 y 32 cm.

Las dos poblaciones de *C. ladanifer* (S y SC) no mostraron generalmente diferencias significativas (P<0.05) en los parámetros de crecimiento, salvo en el nº de hojas producidas (NH), con valores normalmente superiores en la población S. La biomasa se incrementó hasta en 2 veces con la adición de P en comparación con el control, aunque no hubo variaciones significativas (P<0.05) en la biomasa con el incremento del nivel de P añadido (de 10P a 30P). En este sentido, la correlación encontrada entre la cantidad de P añadido y la producción de biomasa aérea no fue significativa (P<0.05). Contrariamente, el incremento de la adición de N provocó un aumento significativo de biomasa aérea (desde 10N a 50N, P<0.05), y este efecto fue más pronunciado en la población S, lo que sugiere una mayor eficiencia en la asimilación del N en esta población. El incremento de biomasa en la parte aérea de las poblaciones S y SC en los tratamientos de 50N llegó a ser en torno a 20 y 13 veces, respectivamente. El coeficiente de correlación encontrado entre la cantidad de N añadida al suelo y la producción de biomasa aérea fue en este caso claramente significativo (P<0.01), alcanzando valores de 0.8 y 0.7 para las poblaciones S y SC, respectivamente. El efecto positivo del N sobre la producción de biomasa en plantas hiperacumuladoras y no hiperacumuladoras creciendo sobre suelos contaminados ha sido demostrado en diversas ocasiones (Sirguey et al., 2006; Bennett et al., 1998; Robinson et al., 1997; Conesa et al., 2007). Algunos de estos trabajos mostraron también efectos negativos del P sobre la producción de biomasa y la salud de algunas plantas, como *Thlaspi caerulescens*, en comparación con los tratamientos de N y S. En nuestro experimento, en el caso de la población SC, el P tuvo cierto efecto positivo cuando fue añadido junto con el N, de manera que la biomasa obtenida tendía a ser mayor en algunos tratamientos de N con

altos niveles de P (25N15P o 50N30P). A su vez, no se encontraron evidencias de que la adición de P pudiera provocar efectos negativos sobre la salud de *C. ladanifer*. La correlación existente entre el P añadido y el número de hojas secas y cloríticas no fue en ningún caso significativa (P<0.01).

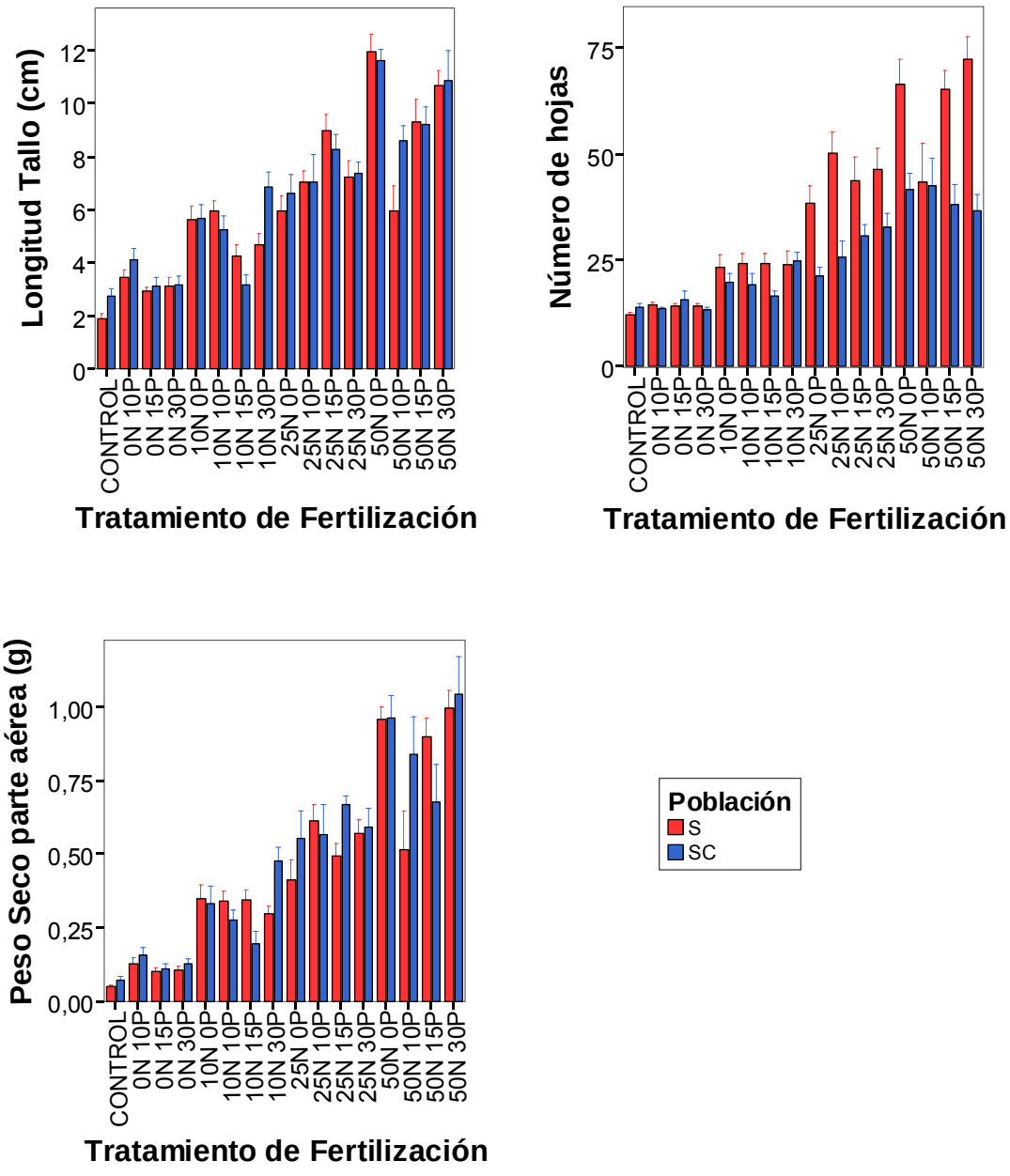

Figura 1.- Distintos parámetros de crecimiento de <u>C. ladanifer</u> en función de los tratamientos de fertilización realizados sobre los sustratos. En rojo se representa la población originaria del área serpentinítica (S) y en azul la originaria del área esquistosa (SC).

A un nivel de fertilización óptimo de 50N, todos los individuos de *C. ladanifer*, independientemente de su población, fueron también capaces de crecer en los sustratos preparados desde valores de pH en torno a 4 hasta valores de pH en torno a 7. El pH del suelo también influyó, sin embargo, en el desarrollo y el crecimiento de las plantas (sólo en biomasa aérea, pero no en nº de hojas (NH) y longitud del tallo (LT)) ($P<0.05$) (Figura 2). Los individuos de la población S de *C. ladanifer*, independientemente del pH del sustrato, tendieron a mostrar generalmente una mayor producción de biomasa y valores de NH y LT superiores a los alcanzados por los individuos de la población SC, existiendo en algunos casos diferencias significativas ($P<0.05$). Otra vez una mayor eficiencia en la asimilación de nutrientes de la población S, adaptada a suelos serpentiníticos, podría justificar este hecho. Ambas poblaciones, aunque fundamentalmente S, presentaron una mayor producción de biomasa aérea con la acidez de los suelos, con un máximo a pH 5. Con el incremento del pH del suelo (pH>6), el crecimiento tendió a reducirse hasta en 3 veces al disminuir la disponibilidad de determinados nutrientes en el suelo. Algunos autores, como por ejemplo Boisson et al. (1999), mostraron que la deficiencia de determinados nutrientes (como Mn y K) y la posible liberación de elementos tóxicos en los suelos (como As) que se produce con el incremento del pH debería tenerse en cuenta a la hora de encalar los suelos contaminados para producir una inmovilización de los metales en el suelo durante el proceso de fitoestabilización, ya que puede producir efectos negativos en el crecimiento y funcionamiento de las plantas utilizadas.

Acumulación de metales en C. ladanifer e implicaciones de la fertilización y acidificación en posibles procesos de fitocorrección

Las propiedades físico-químicas generales del suelo de mina empleado en el ensayo de fertilización tras su acidificación con H_2SO_4 hasta un pH aproximado de 5.5 (Control 1), así como tras el crecimiento de las plantas de *C. ladanifer* sin fertilización (Control 2) y tras la adición de diferentes dosis de fertilización, se presentan en la tabla 1.

Ninguno de los tratamientos de fertilización llevados a cabo sobre el suelo de mina provocaron por sí mismos variaciones significativas ($P<0.05$) en las propiedades físico-químicas analizadas, salvo en el caso del contenido en Na^+ en el complejo de cambio, cuyo incremento en los tratamientos con 30P se debió a la adición complementaria de este catión en el fertilizante de P (Na_2PO_4). El crecimiento de *C. ladanifer*, sin embargo, independientemente del tratamiento de fertilización llevado a cabo, provocó variaciones significativas ($P<0.05$) en distintas propiedades físico-químicas, detectándose un incremento generalizado del pH_{H2O} desde valores de 5.3 hasta valores en torno a 5.8 y de pH_{kCl} desde 5.2 hasta 5.7, así como una disminución del contenido de Ca^{+2}, Mg^{+2} y K^+ en el complejo de cambio debido al consumo de estos macronutrientes por las plantas en crecimiento.

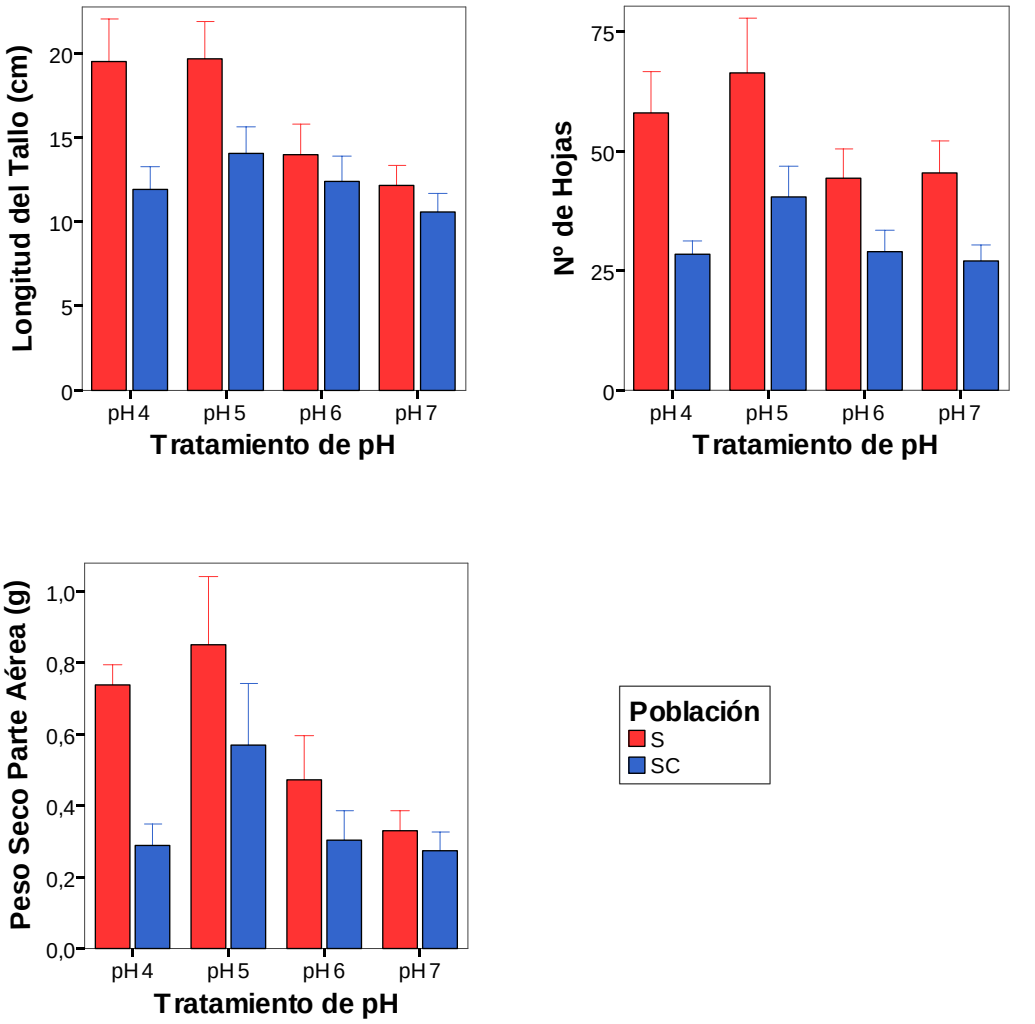

Figura 2.- Distintos parámetros de crecimiento de <u>C. ladanifer</u> en función de los tratamientos de pH realizados sobre los sustratos. En rojo se representa la población originaria del área serpentinítica (S) y en azul la originaria del área esquistosa (SC).

Las concentraciones de metales pesados potencialmente asimilables por las plantas (extraíble en EDTA) tampoco se vieron afectadas ($P<0.05$) por los diferentes tratamientos de fertilización (NH_4NO_3 / Na_2PO_4) (Tabla 2). Existen algunos ejemplos que demuestran que la adición de fertilizantes con NH_4^+, como la urea, provocan un incremento de metales (como Cd y Pb) solubles e intercambiables en el suelo, debido a que se produce una acidificación del sustrato y una competencia del propio NH_4^+ con los metales por las superficies de adsorción (Lorenz et al., 1994). Así mismo, la adición de fosfatos podría provocar, por el contrario, una inmovilización de determinados metales como el Pb o el Zn en los suelos, debido a su posible precipitación (Chaney et al., 2000; Ma et al., 1995; Ma & Rao, 1999; Cao et al. 2002; Cakmak & Marschner, 1987; Zhao et al., 1998). En nuestro experimento no se detectaron este tipo de procesos, existiendo generalmente en todos los metales una escasa variación de la fracción

Tabla 1.- Propiedades físico-químicas generales del suelo de mina empleado sin el crecimiento (CONTROL 1) y tras el crecimiento de C. ladanifer (CONTROL 2) y la adición de diferentes tratamientos de fertilización de N/P.

Tratamiento de Fertilización	pH_{agua}	pH_{KCl}	%C	Ca^{+2} cmol(+)/kg	Mg^{+2} cmol(+)/kg	Na^{+} cmol(+)/kg	K^{+} cmol(+)/kg
CONTROL 1	5.3	5.2	-	24.8	1.3	0.10	0.11
CONTROL 2	5.8 ±0.03	5.7 ±0.04	0.45 ±0.01	17.7 ±1.6	0.8 ±0.02	0.09 ±0.004	0.06 ±0.009
0N 10P	5.7 ±0.06	5.5 ±0.05	0.42 ±0.01	16.7 ±1.3	0.9 ±0.02	0.11 ±0.011	0.08 ±0.010
0N 15P	5.8 ±0.04	5.7 ±0.02	0.45 ±0.02	16.1 ±0.82	0.7 ±0.04	0.14 ±0.005	0.07 ±0.001
0N 30P	5.7 ±0.03	5.6 ±0.04	0.48 ±0.02	16.5 ±1.3	0.8 ±.004	0.20 ±0.013	0.06 ±0.004
10N 0P	5.7 ±0.04	5.5 ±0.04	0.42 ±0.02	14.8 ±0.9	0.8 ±0.02	0.07 ±0.007	0.06 ±0.006
10N 10P	5.6 ±0.06	5.6 ±0.02	0.41 ±0.02	15.0 ±1.2	0.8 ±0.04	0.11 ±0.011	0.05 ±0.005
10N 15P	5.6 ±0.03	5.6 ±0.03	0.44 ±0.01	16.0 ±0.9	0.8 ±0.03	0.12 ±0.006	0.06 ±0.005
10N 30P	5.6 ±0.04	5.7 ±0.02	0.44 ±0.02	17.1 ±1.1	0.7 ±0.04	0.20 ±0.014	0.04 ±0.005
25N 0P	5.8 ±0.06	5.7 ±0.05	0.45 ±0.02	16.9 ±1.7	0.8 ±0.03	0.08 ±0.007	0.05 ±0.004
25N 10P	5.7 ±0.04	5.6 ±0.04	0.45 ±0.01	14.5 ±0.5	0.7 ±0.02	0.11 ±0.007	0.06 ±0.004
25N 15P	5.7 ±0.03	5.6 ±0.04	0.46 ±0.01	13.9 ±0.4	0.7 ±0.02	0.12 ±0.006	0.06 ±0.003
25N 30P	5.7 ±0.03	5.8 ±0.03	0.45 ±0.02	19.3 ±1.3	0.8 ±0.03	0.17 ±0.017	0.04 ±0.006
50N 0P	5.6 ±0.03	5.5 ±0.02	0.46 ±0.03	14.8 ±0.7	0.7 ±0.03	0.06 ±0.005	0.06 ±0.004
50N 10P	5.7 ±0.04	5.7 ±0.03	0.44 ±0.02	18.8 ±1.8	0.8 ±0.03	0.10 ±0.006	0.04 ±0.004
50N 15P	5.7 ±0.04	5.6 ±0.05	0.48 ±0.03	15.0 ±0.4	0.7 ±0.01	0.10 ±0.006	0.05 ±0.003
50N 30P	5.7 ±0.03	5.7 ±0.07	0.51 ±0.04	19.9 ±2.0	0.8 ±0.03	0.16 ±0.011	0.04 ±0.006

Tabla 2.- Rangos de concentración de metales potencialmente biodisponibles (extraído en EDTA) en el suelo de mina empleado tras el crecimiento de C. ladanifer (CONTROL 2) y la adición de diferentes tratamientos de fertilización de N/P. (n.d= no detectado)

Tratamiento de Fertilización	Cd_{EDTA}	Co_{EDTA}	Cr_{EDTA}	Cu_{EDTA}	Mn_{EDTA}	Ni_{EDTA}	Pb_{EDTA}	Zn_{EDTA}
CONTROL 2	n.d – 0.5	1.2 - 2.8	0.6 – 1.0	3.1 - 4.4	92 - 471	1 - 1.7	5.4 - 8.2	1.9 - 2.7
0N 10P	n.d	1.3 – 2	0.5 - 1.1	3.2 - 4.8	90 – 422	0.9 -1.9	4.3 - 8.6	1.8 - 2.9
0N 15P	n.d	1.5 - 3.3	0.5 - 0.9	2.8 - 4.1	80 – 129	1.3 - 2.5	5.5 - 9.8	1.8 – 12
0N 30P	n.d	1.3 - 2.9	0.7 – 1	2.6 - 4.7	63 – 90	1.2 - 1.9	7.0 - 8.8	1.7 - 5.3
10N 0P	n.d	1.6 - 2.2	0.8 - 1.2	2.8 - 4.5	78 – 131	1.3 - 1.4	6.1 - 8.1	1.2 - 2.9
10N 10P	n.d	1.2 - 1.7	0.8 - 1.1	3.1 – 4	80 – 108	1.1 - 1.4	6.1 - 8.5	2.3 - 2.9
10N 15P	n.d	1.2 – 2	0.8 - 1.1	3.4 - 5.2	90 – 112	1.1 - 1.7	6.9 – 14	2.1 - 2.7
10N 30P	n.d	1.3 - 2.5	0.7 - 1.1	4 - 5.5	92 – 113	1.2 - 1.7	6.6 - 8.8	1.9 - 2.4
25N 0P	n.d	1.6 - 2.2	0.7 – 1	3.7 - 5.4	102 – 117	1.4 - 2.2	7.1 – 11	2 - 3.2
25N 10P	n.d	1.6 - 2.9	0.7 - 0.9	2.6 - 4.7	94 – 139	1.3 - 1.6	7.0 - 9.9	1.7 - 3.1
25N 15P	n.d	1.6 - 2.1	0.5 - 0.7	3.7 - 5.3	78 – 115	1.1 - 1.6	6.2 – 10	1.9 - 3.7
25N 30P	n.d	1.7 - 3.2	0.5 - 0.8	3.5 - 5.4	84 – 555	1.1 - 1.6	5.9 – 10	1.8 - 2.6
50N 0P	n.d	1.5 - 2.3	0.5 - 0.8	3 - 4.9	92 – 590	1.3 - 1.6	6.6 - 9.7	1.8 - 3.1
50N 10P	n.d	1.4 - 3.2	0.7 - 1.3	3 - 4.3	293 – 453	1.2 - 8.5	2.7 - 10	1.3 - 2.6
50N 15P	n.d	1.7 - 2.7	0.7 - 1.5	3.5 - 4.7	316 – 514	1.3 - 1.7	7.2 - 8.8	2.1 - 2.8
50N 30P	n.d	1.4 - 3.2	0.5 - 1.4	3.2 - 4	80 - 445	1.1 - 1.7	6.3 - 8.3	1.7 - 3.3

biodisponible, con valores entre 1.2-3.3, 0.6-1.5, 2.6-5.5, 0.9-8.5, 4.3-10 y 1.2-12 mg kg^{-1} para Co, Cr, Cu, Ni, Pb y Zn, respectivamente. En el caso del Mn las concentraciones encontradas mostraron una mayor variabilidad (63-590 mg kg^{-1}), aunque el patrón de variación no se pudo relacionar en ningún caso con el tipo y dosis de fertilizante empleado.

De acuerdo con la baja concentración y biodisponibilidad de la mayor parte de los metales pesados analizados en el sustrato, la acumulación de metales en la parte aérea (hojas+tallos) de *C. ladanifer*, independientemente de su población y del tratamiento de fertilización, fue generalmente baja, con la excepción del Mn (Tabla 3). Las concentraciones de Cd, Cr y Pb en hojas y tallos se mantuvieron en todos los casos por debajo del límite de detección (< 2.5 mg kg^{-1}), mientras que los niveles de acumulación de Cu y Co en la parte aérea de *C. ladanifer* mostraron concentraciones variables entre mínimos de 4 y 7 mg kg^{-1} y máximos de 69 y 64 mg kg^{-1}, respectivamente. El Ni y el Zn mostraron concentraciones en la parte aérea ligeramente superiores, entre 11-193 y 17-213 mg kg^{-1}, respectivamente, con una acumulación máxima en tallos de 500 y 560 mg kg^{-1} respectivamente. El Mn se mostró como el metal con un mayor nivel de acumulación, con concentraciones medias en la parte aérea entre 212 y 4505 mg kg^{-1} y una acumulación máxima en hojas de hasta 8182 mg kg^{-1}. De acuerdo con el criterio de concentración del 1% de Mn en hojas, sugerido por Baker & Brooks (1989), sólo 11 especies pueden ser calificadas como hiperacumuladoras de Mn, principalmente especies arbustivas y árboles de áreas subtropicales, pertenecientes a las familias *Apocynaceae, Celastraceae, Clusiaceae, Myrtaceae* y *Proteaceae* (Reeves & Baker, 2000; Proctor et al., 1989; Bidwell, 2000). La acumulación máxima de Mn en hojas de *C. ladanifer* se acerca a la de este tipo de plantas hiperacumuladoras.

Tabla 3.- Rangos de concentración de metales en Hojas y Tallos de C. ladanifer creciendo sobre sustratos de mina con diferentes tratamientos de fertilización N/P. Entre paréntesis se especifica el valor medio (n.d= no detectado (<2.5 mg kg^{-1}).

	Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
Hojas	n.d	n.d -61 (21)	n.d	n.d -74 (8.6)	135-8182 (2237)	6.8-181 (21)	n.d	9.3-236 (93)
Tallos	n.d	n.d -95 (19)	n.d	n.d -43 (7)	273-4425 (736)	n.d-500 (62)	n.d	37-560 (79)
Parte Aérea (Hojas+Tallos)	n.d	6.9-64 (21)	n.d	4-69 (8.4)	212-4505 (2019)	10.6-193 (27)	n.d	16.9-213 (93)

Las dos poblaciones de *C. ladanifer* (S/SC) no presentaron generalmente diferencias significativas (P<0.05) en cuanto a la acumulación de metales pesados, salvo en el caso del Co, que presentó valores medios superiores en la población S (22.7 mg kg^{-1} frente a los 19.3 mg kg^{-1} encontrados en la población SC). Este hecho puede relacionarse con el origen de la población, de manera que aquellos individuos procedentes de sustratos serpentiníticos (S) pueden haber desarrollado mecanismos de tolerancia a las elevadas concentraciones de metales que usualmente presentan estos suelos (Ni, Cr, Co), incluyendo la acumulación de Co en la parte aérea como formas no tóxicas (Baker, 1981).

Algunos tratamientos de fertilización del suelo parecieron influir significativamente (P<0.05) en la acumulación de Co y Ni en la parte aérea de *C. ladanifer,* fundamentalmente en la población S (Figura 3). La concentración de Co en la población S se redujo hasta en un 73% en los tratamientos con una mayor adición de N (50N) (54.8 mg kg^{-1} en control frente a los 14.5-16.9 mg kg^{-1} en tratamientos con 50N), mientras que la concentración de Ni se redujo hasta en un 70-80% en esos mismos tratamientos de fertilización (52.2 – 81.3 mg kg^{-1} en control frente a los 16.1-15.5 mg kg^{-1} para la población S y SC, respectivamente). Olsen et al. (1983) propusieron que la menor acumulación de metales en la parte aérea de las plantas tras la adición de fertilizantes se debe probablemente a un efecto de dilución, provocado por el incremento de la biomasa aérea. Esta teoría se ve reafirmada puesto que la biodisponibilidad de Co y Ni en los sustratos de crecimiento no se vio afectada por la adición de diferentes dosis de fertilizantes, por lo que los resultados no podrían ser explicados por una reducción de su biodisponibilidad. Un análisis de regresión linear muestra las relaciones negativas altamente significativas (P<0.01) entre la producción de biomasa y las concentraciones de Ni y Co en la parte aérea (R=-0.573 y R=-0.495). Algunos autores han aportado resultados similares en la acumulación de Ni y Zn en las plantas hiperacumuladoras *Alyssum bertolonii y Thlaspi caerulescens* (Bennet et al., 1998), o en la acumulación de Cd y Pb en plantas de tabaco (Rodríguez-Ortiz et al., 2006). Otros autores, sin embargo, han detectado el efecto opuesto, con un incremento de la acumulación de metales (Lorenz et al., 1994; Mitchell et al., 2000; Kulli et al., 1999). En cualquier caso, los posibles efectos fisiológicos involucrados en la mayor o menor absorción y acumulación de metales en función de la tasa de crecimiento de la planta permanecen desconocidos. En referencia al resto de metales analizados (Cu, Mn y Zn), cabe comentar que ninguna de las poblaciones de *C. ladanifer* mostró generalmente una reducción significativa (P<0.05) de la concentración con la adición de dosis crecientes de fertilización, aunque sí se encontró la misma tendencia, fundamentalmente para el Mn y el Zn. En el caso del Zn, por ejemplo, en la población S la concentración se llegó a reducir en torno a 2.5 veces en el tratamiento 25N 30P (54.5 mg kg^{-1} frente a los 135.2 mg kg^{-1} obtenidos en el control), siendo en este caso una reducción significativa (P<0.05). No obstante, las diferencias puntuales en la acumulación de Zn no siguieron un patrón definido, y bien podría deberse a la variabilidad existente entre individuos (Reeves et al., 2001; Schwartz, 1997).

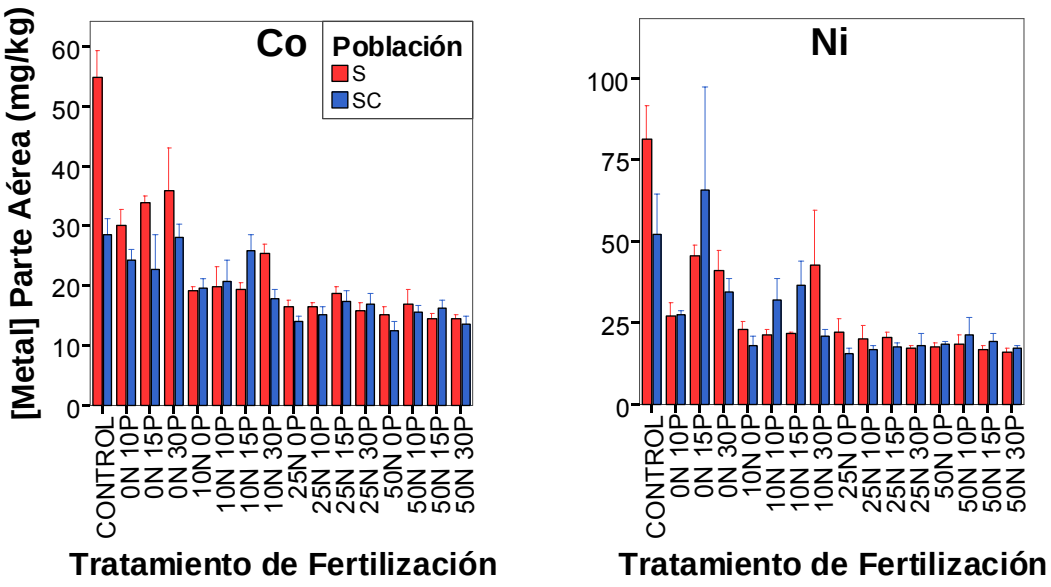

Figura 3.- Concentración de Co y Ni en la parte aérea de C. ladanifer en función del tratamiento de fertilización N/P llevado a cabo sobre el sustrato de crecimiento. En rojo se representa la población originaria del área serpentinítica (S) y en azul la originaria del área esquistosa (SC).

Las variaciones de pH del sustrato, por su parte, afectaron significativamente al equilibrio iónico del suelo debido a la influencia de los H^+ sobre las superficies de adsorción del suelo y sobre los procesos de alteración mineral. En este sentido, se produjo un incremento progresivo de la cantidad de Ca^{+2} y Mg^{+2} de cambio con la acidificación del sustrato hasta pH 4, en donde se encontraron concentraciones máximas en torno a 30 y 4 cmol(+) kg^{-1}, respectivamente, así como un incremento del Al^{+3} de cambio, únicamente detectable a este valor de pH. Así mismo, los metales incrementan generalmente su biodisponibilidad con la acidificación del sustrato (Adriano, 2001), detectándose esta tendencia en los casos del Ni, Zn y fundamentalmente del Mn. El Ni y el Zn presentaron máximos de biodisponibilidad a pH 5, con valores medios de 2.9 y 5.6 mg kg^{-1}, respectivamente, viéndose reducida la biodisponibilidad a pH 4 hasta valores en torno a 1.4 y 2.1 mg kg^{-1}, valores similares a los encontrados a pH>6. El Mn presentó valores máximos de biodisponibilidad de 115 y 112 mg kg^{-1} a pH 5 y pH 4, respectivamente, mientras que a valores de pH>6 se encontraron valores medios en torno a 105 mg kg^{-1}. El Cu apenas sufrió variaciones en función del pH del sustrato, mientras que el Pb, contrariamente a la respuesta general de los metales, tendió a disminuir su biodisponibilidad en los sustratos más ácidos (pH<6), con valores en torno a 3.9 – 5.4 mg kg^{-1} frente a los valores por encima de 7 mg kg^{-1} encontrados en aquellos sustratos de pH>6. Estos resultados permiten afirmar que la mayor disponibilidad de macronutrientes como el Ca y el Mg con la acidificación del sustrato, así como de Mn, podría justificar el mayor crecimiento de *C. ladanifer* a pH<6, mientras que la aparición de Al^{+3} a pH 4 provocaría cierta toxicidad y un descenso del crecimiento frente a lo encontrado a pH 5 (Figura 2).

Tabla 4.- Rangos de concentración de metales en Hojas y Tallos de C. ladanifer creciendo sobre sustratos de mina con diferentes tratamientos de pH. Entre paréntesis se especifica el valor medio (n.d= no detectado).

	Co	Cu	Mn	Ni	Zn
Hojas	n.d-37 (15)	n.d-29 (8.5)	80-3200 (1492)	7-38 (17)	31-240 (90)
Tallos	n.d	n.d	6.6-7000 (487)	1.9-375 (25)	4.2-1250 (81)
Parte Aérea (Hojas+Tallos)	-	-	71-3739 (1325)	6.5-76 (18)	30-383 (89)

El nivel de acumulación de metales en los tejidos aéreos de *C. ladanifer* se mantuvo generalmente bajo en todos los niveles de acidificación, aunque varió dependiendo del metal considerado (Tabla 4). La concentración de Cd, Cr y Pb en hojas y tallos se mantuvo en todos los casos por debajo del límite de detección (< 2.5 mg kg^{-1}). El Co y el Cu mostraron únicamente niveles detectables en las hojas, con valores máximos en torno a 37 mg kg^{-1} en el caso del Co y de 29 mg kg^{-1} en el caso del Cu. El Ni presentó una acumulación en hojas y tallos ligeramente superior, con una concentración máxima en hojas de 38 mg kg^{-1} y de 375 mg kg^{-1} en tallos. Finalmente, el Zn y, principalmente, el Mn volvieron a mostrar los mayores niveles de acumulación tanto en hojas como en tallos, con concentraciones máximas de 240 y 3200 mg kg^{-1} y de 1250 y 7000 mg kg^{-1} para hojas y tallos, respectivamente.

El nivel de acumulación de algunos de los metales varió, no obstante, en función de la población de *C. ladanifer* considerada (S/SC), pero estas variaciones dependieron del nivel de acidificación del sustrato (pH 4- pH 7) (Figura 4). La población S, de origen serpentinítico, volvió a presentar sistemáticamente un mayor nivel de acumulación en hoja de Co, y también en este caso de Mn y Zn, sobre los sustratos de crecimiento menos acidificados (pH 6-7), siendo este hecho más acentuado sobre sustratos de pH 7. En estos sustratos, la población S acumuló más del doble de Co y en torno a 6 veces más de Mn en hojas, existiendo claras diferencias ($P<0.05$) con la población SC. La acumulación de Zn fue, así mismo, en torno a 1.5 veces mayor en la población S. Por otro lado, se encontraron también algunas diferencias significativas ($P<0.05$) entre ambas poblaciones en cuanto a la acumulación en hojas de Co y Zn cuando crecieron sobre sustratos fuertemente acidificados (pH 4), con una mayor acumulación de Co en la población SC y una mayor acumulación de Zn en la población S. No se encontraron diferencias de acumulación de metales entre poblaciones en sustratos acidificados en torno a pH 5.

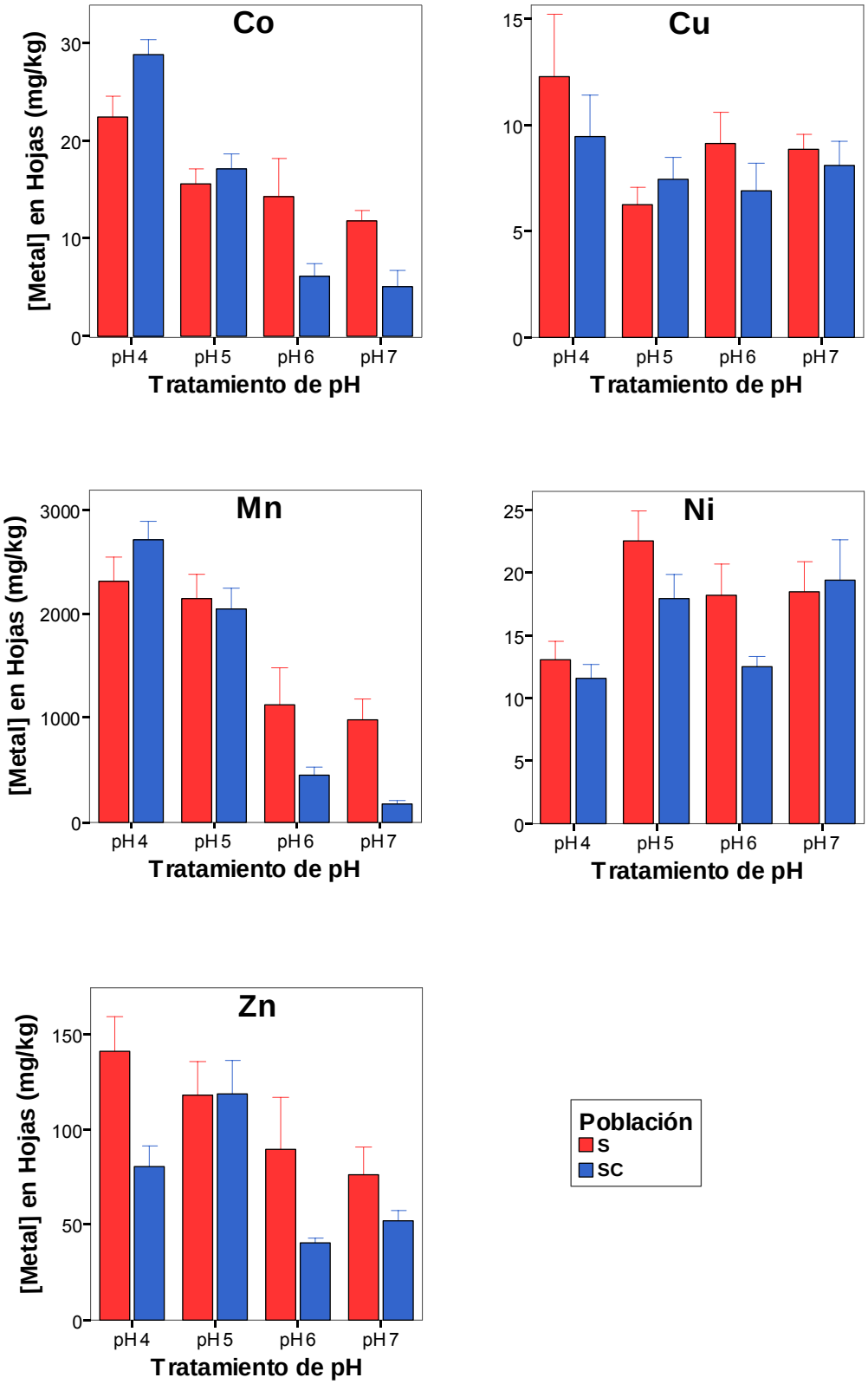

Figura 4.- Concentración de metales en hojas de <u>C. ladanifer</u> en función del tratamiento de pH llevado a cabo sobre el sustrato de crecimiento. En rojo se representa la población originaria del área serpentinítica (S) y en azul la originaria del área esquistosa (SC).

Por otro lado, independientemente de la población de *C. ladanifer* considerada, el pH del sustrato de crecimiento influyó generalmente en el nivel de acumulación de metales, aunque la influencia del pH fue normalmente más acusada en la población SC (Figura 4). La acumulación de Co, Mn y Zn se incrementó progresivamente en todos los casos con el descenso del pH, mientras que la acumulación de Cu y Ni no pareció seguir este mismo patrón. La acumulación de Co y Mn fue significativamente ($P<0.05$) superior en los sustratos más acidificados (pH 4) para ambas poblaciones, aunque en el caso de la población S las diferencias fueron únicamente significativas ($P<0.05$) entre sustratos de pH 4 y pH 7 para el caso del Co y entre los sustratos de pH 4 y pH 6-7 para el caso del Mn. La concentración de Co y Mn en la población SC llegó a incrementarse hasta en 5 y 15 veces respectivamente en los sustratos más acidificados (pH 4) frente a los menos acidificados (pH 7). La población SC presentó, además, una acumulación significativamente ($P<0.05$) superior (más de 2 veces) de Zn en hojas en los pH más ácidos (pH 4-5), con un máximo a pH 5.

No se encontraron coeficientes de correlación de Pearson significativos ($P<0.05$) entre el nivel de acumulación de metales en *C. ladanifer* y la concentración de metales biodisponibles en los sustratos con diferentes niveles de acidificación. De ello se deduce que en la asimilación y acumulación de metales en *C. ladanifer* deben estar involucrados otros aspectos relacionados con las condiciones de crecimiento y la fisiología de la propia planta (Basta et al., 2005).

Los efectos tanto de la fertilización como de la acidificación de los suelos de mina sobre el crecimiento de *C. ladanifer*, así como sobre la acumulación de metales en su parte aérea, deben resultar determinantes en la capacidad de esta especie para la revegetación y fitocorrección de este tipo de suelos contaminados. La adición de fertilizantes no provocó un efecto directo sobre la biodisponibilidad metálica del suelo, pero mejoró significativamente ($P<0.05$) el crecimiento de *C. ladanifer* en los suelos de mina y supuso una reducción de la concentración de metales en su parte aérea, más acusada en los casos de Co y Ni, debido a un efecto de dilución. Este tipo de tratamiento favorecería, por tanto, el uso de *C. ladanifer* en procesos de fitoestabilización de suelos contaminados. El drástico incremento de biomasa, por encima de 15-20 veces (dependiendo de la población) a elevadas dosis de N, podría suponer, por otro lado, una mayor fitoextracción de determinados metales acumulados en la parte aérea de *C. ladanifer*, como Zn o principalmente Mn (Figura 5). Todos los tratamientos de 50N, e incluso el 25N 15P en el caso del Mn, provocaron una extracción significativamente mayor ($P<0.05$) de Mn y Zn por *C. ladanifer* en suelos de mina degradados. Ambas poblaciones presentaron una capacidad de fitoextracción similar, a pesar de que la población S pertenece a una comunidad vegetal altamente adaptada a suelos metalíferos como son los suelos serpentiníticos y de que usualmente presentó un mayor incremento de biomasa (no

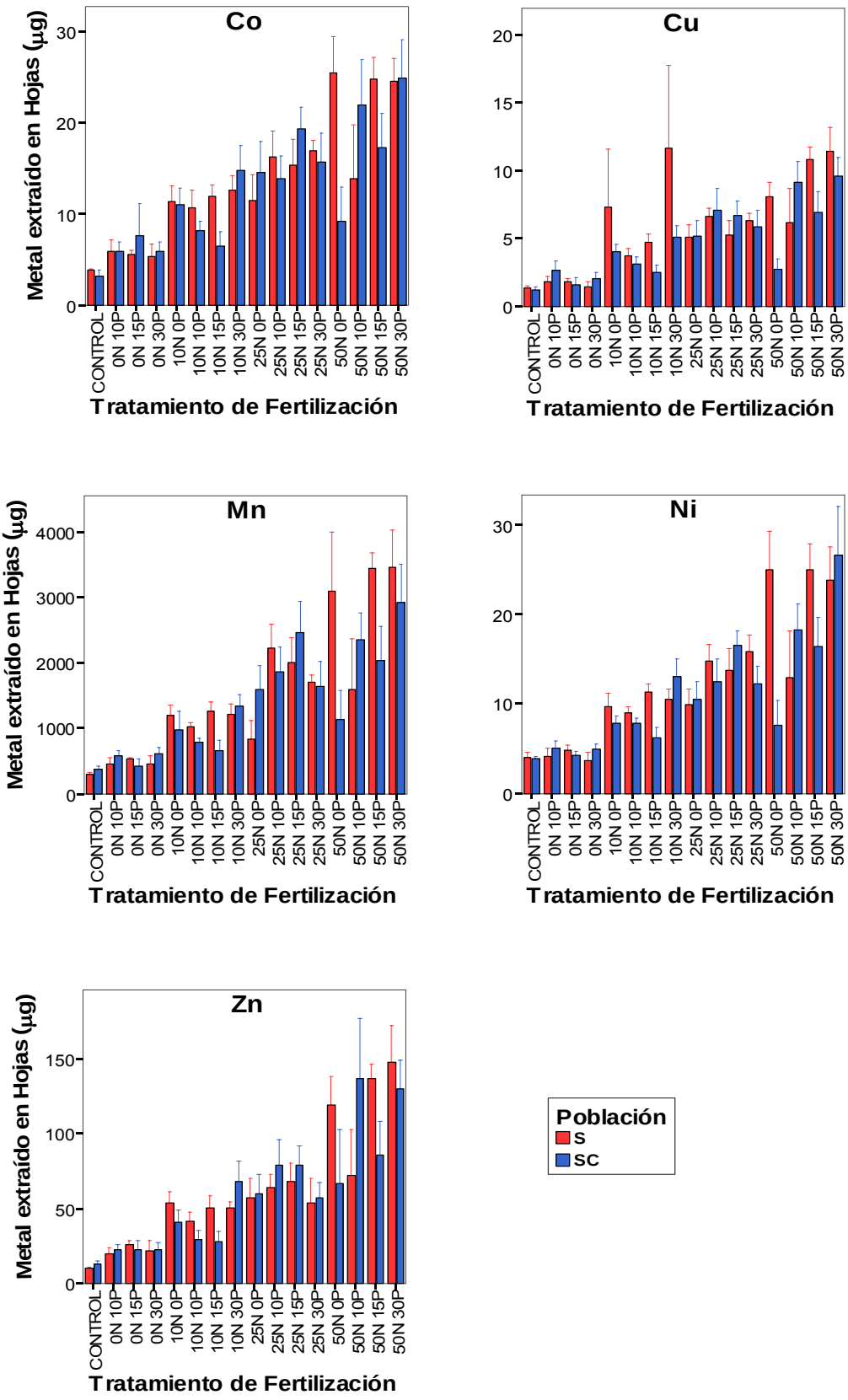

Figura 5.- Cantidad media de metales extraídos en hojas tras 16 semanas de crecimiento de <u>C. ladanifer</u> en función del tratamiento de fertilización N/P llevado a cabo sobre el sustrato de crecimiento. En rojo se representa la población originaria del área serpentinítica (S) y en azul la originaria del área esquistosa (SC). Metal extraido= $[Metal]_{Hoja}$ * Biomasa Hoja

significativa) con la adición de N. La extracción media en hojas encontrada en los tratamientos de 50N fue en torno a 96-139 y 2223-3183 µg por individuo para Zn y Mn, respectivamente, frente a los 11 y 340 µg extraídos en los sustratos control. Los coeficientes de correlación de Pearson encontrados entre la cantidad de metal extraído y la biomasa alcanzada por la parte aérea de *C. ladanifer* fueron en todos los casos positivos y altamente significativos ($P<0.01$) con valores entre 0.7 y 0.9, mientras que los encontrados entre la cantidad de metal extraído y la concentración de metal alcanzada en la parte aérea fueron frecuentemente negativos. Este hecho resalta la importancia del factor "crecimiento de las plantas" durante el proceso de fitoextracción.

En referencia al efecto de la acidificación de los suelos, *C. ladanifer* se mostró como una especie adaptada a suelos ácidos (pH<6) que redujo significativamente su crecimiento con el incremento de pH. Este hecho limita su uso en procesos de fitoestabilización de suelos contaminados en los que se añaden enmiendas de encalado para reducir la movilidad de metales. Una acidificación de los suelos, sin embargo, incrementa usualmente la biodisponibilidad de los metales en el suelo y su acumulación en la parte aérea de las plantas (Castilho & Chardon, 1995; Narwal et al., 1983), lo que podría resultar interesante desde el punto de vista de la fitoextracción (Wang et al, 2006). *Cistus ladanifer* mostró un mayor crecimiento y nivel de acumulación de metales a pH ácidos (PH<6), con un máximo a pH 5, lo que incrementó significativamente ($P<0.05$) su capacidad de fitoextracción de Zn y Mn (Figura 6). La población S, adaptada a suelos metalíferos con valores de pH cercanos a la neutralidad, sí mostró generalmente en este caso una mayor eficiencia de fitoextracción que la población SC ($P<0.05$), encontrándose diferencias más acentuadas a valores de pH>6. La población SC se vio mucho más afectada por estos valores de pH y presentó mayores diferencias de fitoextracción entre tratamientos de acidificación que la población S, que presentó normalmente tanto una mayor producción de biomasa aérea como una mayor acumulación de metales. En la población S, el Mn extraído en hoja a pH 5 (1552 µg individuo^{-1}) fue más de 3 veces superior al extraído a pH 6 (431 µg individuo^{-1}) y más de 6 veces superior al extraído a pH 7 (241 µg individuo^{-1}). En la población SC, el incremento de la extracción de Mn a pH 5 (1043 µg individuo^{-1}) superó en torno a 5 veces el Mn extraído a pH 6 (212 µg individuo^{-1}) y en más de 30 veces el Mn extraído a pH 7 (34 µg individuo^{-1}). De manera similar, el Zn extraído en hoja por los individuos de la población S a pH 5 (86 µg individuo^{-1}) fue más de 4 veces superior al extraído a pH 7 (19 µg individuo^{-1}), mientras que en la población SC el Zn extraído a pH 5 (54 µg individuo^{-1}) superó en más de 3 veces al Zn extraído a pH 6 (16 µg individuo^{-1}) y en más de 5 veces al extraído a pH 7 (10 µg individuo^{-1}). El incremento de la fitoextracción por parte de *C. ladanifer* sobre sustratos ácidos (pH<6) se debió tanto al incremento de la capacidad de acumulación como al incremento de la producción de biomasa aérea bajo estas condiciones edáficas. Un cálculo de los coeficientes de correlación mostró en este caso la importancia

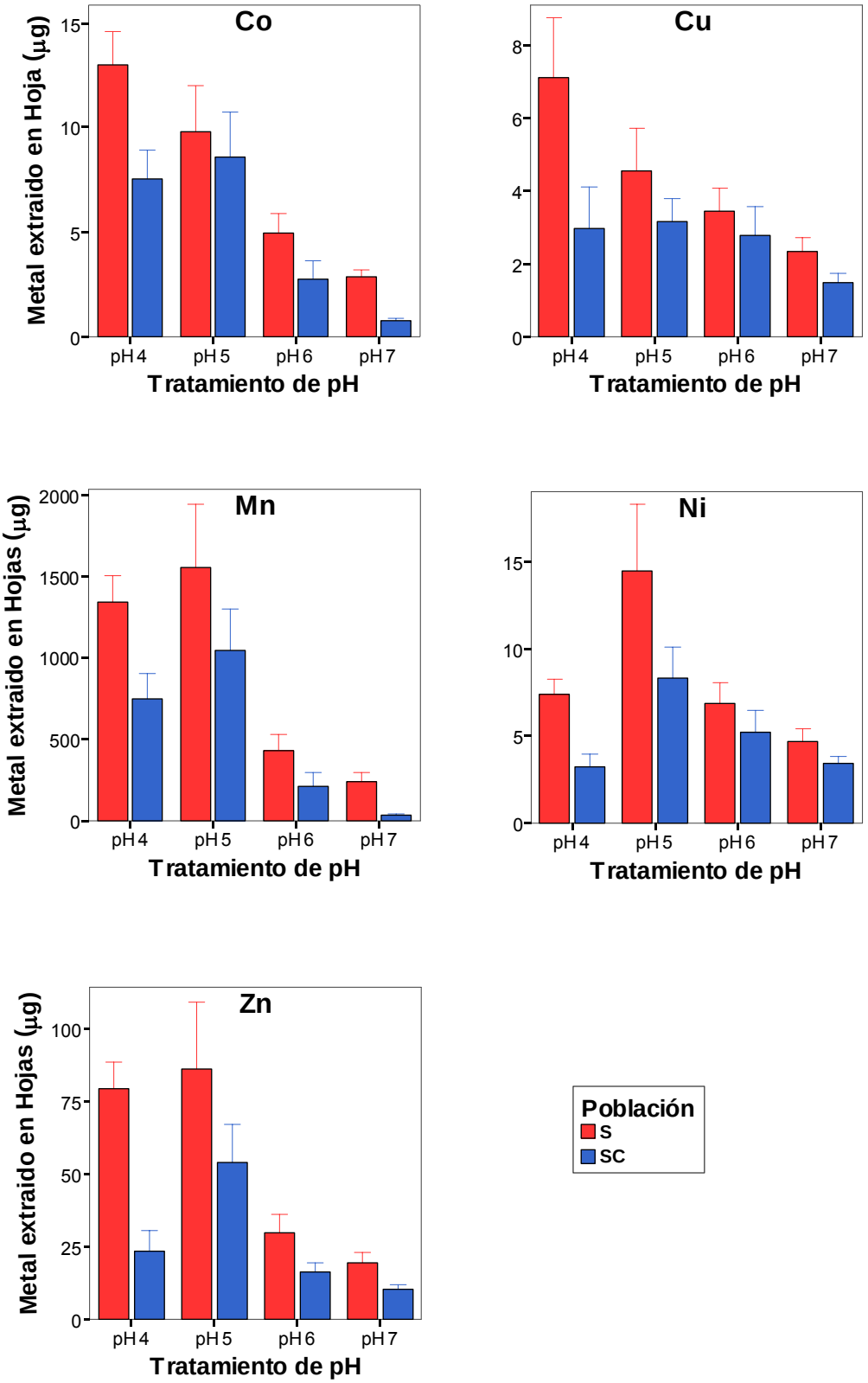

Figura 6.- Cantidad media de metales extraídos en hojas tras 16 semanas de crecimiento de C. ladanifer en función del tratamiento de pH llevado a cabo sobre el sustrato de crecimiento. En rojo se representa la población originaria del área serpentinítica (S) y en azul la originaria del área esquistosa (SC).

conjunta de los factores biomasa y acumulación en la extracción de metales, con valores en ambos casos entre 0.5 y 0.7, salvo para el caso del Ni, en donde existió una considerablemente mayor influencia del factor biomasa.

4. CONCLUSIONES

Ambas poblaciones de *C. ladanifer* (S y SC) fueron capaces de crecer y sobrevivir en los suelos de escombrera de mina sin tratamientos de fertilización y a diferentes pH, lo que refleja su elevada adaptabilidad y su posible eficacia en procesos de revegetación de suelos degradados. La fertilización y la acidificación del sustrato causaron, no obstante, un efecto positivo ($P<0.05$) sobre el crecimiento de *C. ladanifer*, que generalmente fue mayor en la población S, esencialmente en el experimento de pH. El crecimiento y la producción de biomasa de *C. ladanifer* se incrementó hasta en 2 veces con la adición de P y hasta en 13-20 veces (dependiendo de la población) con la adición de las dosis más elevadas de N (50N). Por su parte, la producción de biomasa aumentó hasta 3 veces desde los ensayos de pH 7 hasta los ensayos de pH 5, como resultado de un aumento de la disponibilidad de nutrientes derivado de la alteración mineral (ej. Ca, Mg y Mn). A pH excesivamente ácidos (pH 4), sin embargo, se produjo una reducción del crecimiento al incrementarse la disponibilidad de elementos tóxicos como pueden ser distintos metales, incluido el Al.

Ninguno de los tratamientos de fertilización N/P llevados a cabo sobre los sustratos de crecimiento afectó a la biodisponibilidad de los metales analizados, mientras que sí lo hizo la acidificación del suelo. La biodisponibilidad de Co, Ni y, principalmente, Mn y Zn tendió a aumentar en los sustratos más ácidos. Por el contrario, la biodisponibilidad de Pb aumentó con el incremento de pH y la biodisponibilidad de Cu no mostró un patrón regular de variación.

La acumulación de metales en la parte aérea de *C. ladanifer* fue generalmente baja de acuerdo con la baja biodisponibilidad de metales en el suelo de mina utilizado, aunque se detectó una mayor acumulación de Zn y, principalmente, Mn (con una acumulación máxima en hojas de hasta 8182 mg Mn kg^{-1}). La fertilización indujo una reducción en la acumulación de metales en la parte aérea de *C. ladanifer,* debido a un efecto de dilución provocado por el incremento de la biomasa. La reducción de Co y Ni fue proporcional a la adición de N al sustrato, y llegó a ser significativa ($P<0.05$) en la población S, mientras que en los casos del Cu, Mn y Zn las diferencias no fueron en ningún caso significativas ($P<0.05$). Así mismo, la acumulación de Co, Mn y Zn decreció progresivamente en todos los casos, aunque de manera mucho más acusada en la población SC, con el incremento del pH, mientras que la acumulación de Cu y Ni no pareció seguir este mismo patrón. El origen de las poblaciones pareció relacionarse con el grado de afección de la fertilización y del pH del sustrato en la acumulación de metales, de manera que la población S, adaptada a suelos sepentiníticos pobres en nutrientes, con elevadas cantidades de metales y con un valor de pH cercano a la neutralidad, presentó un mayor incremento de biomasa con la adición de N y una mayor

dilución de los metales acumulados, mientras que presentó un menor incremento en la acumulación con el desdenso del pH del sustrato. Aunque se vio cierta relación entre la biodisponibilidad metálica en el suelo y su acumulación en planta, la correlación entre ambos parámetros no fue significativa, lo que demuestra la influencia de factores relacionados con las condiciones de crecimiento y la fisiología de la propia planta.

La fertilización, principalmente con elevadas dosis de N, podría facilitar un posible proceso de fitoestabilización de suelos contaminados con *C. ladanifer* al estimular su establecimiento y crecimiento sobre suelos de mina degradados y provocar, en adición, un descenso generalizado de los metales acumulados en su parte aérea. El incremento de biomasa provocado por la fertilización, por otro lado, incrementa la cantidad de metales fitoextraídos a pesar de disminuir su concentración en la parte aérea, lo que podría llegar a resultar interesante desde el punto de vista de la fitoextracción de los metales mayoritariamente acumulados en la parte aérea de *C. ladanifer* (Zn y Mn). Asimismo, la acidificación del sustrato hasta un pH en torno a 5 estimula el crecimiento y la acumulación de metales por parte de *C. ladanifer*, lo que podría incrementar la fitoextracción de Zn y Mn. La población S, adaptada a sustratos serpentiníticos de neutros a alcalinos, mostró una mayor eficiencia de fitoextracción de metales ($P<0.05$) a pH elevados ($pH>6$) debido a su mayor biomasa y a su mayor acumulación, lo que pone de manifiesto la importancia del factor población dependiendo de las condiciones del sustrato.

A pesar de que los resultados obtenidos resaltan la influencia de la adición de enmiendas sobre el crecimiento y acumulación de metales por parte de *C. ladanifer* en suelos degradados, que afectan finalmente en su capacidad como planta fitoestabilizadora/fitoextractora (dependiendo del metal considerado), se estima necesaria la realización de nuevos ensayos sobre suelos con un rango de contaminación de metales elevado para valorar de manera más adecuada la capacidad real de esta especie.

5. REFERENCIAS

Adriano, D.C., 2001. “Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals”. 2nd Edition. Springer-Verlag New York. Berlin Heidelberg.

Alados, C.L., Navarro, T., Cabezudo, B., 1999. “Tolerance assessment of *Cistus ladanifer* to serpentine soils by developmental stability analysis”. Plant Ecology, 143: 51–66.

Alvarenga, P.M. Araújo, M.F., Silva J.A.L., 2003. “Elemental uptake and root-leaves transfer in *Cistus ladanifer* L. growing in a contaminated pyrite mining area (Aljustrel-Portugal)”. Water, Air, and Soil Pollution, 152: 81–96.

Baker, A.J.M., 1981. “Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to trace metals”. Journal of Plant Nutrition, 3: 643–54.

Baker, A.J.M. & Brooks, R.R., 1989. “Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry”. Biorecovery, 1: 81–126.

Basta, N.T., Ryan, J.A., Chaney, R.L., 2005. “Trace element chemistry in residual-treated soil: Key concepts and metal bioavailability”. Journal of Environmental Quality, 34: 49–63.

Benett, F.A., Tyler, E.K., Brooks, R.R., Gregg, P.E.H., Stewart, R.B., 1998. "Fertilisation of hyperaccumulators to enhance their potential for phytoremediation and phytomining". En: Brooks, R., (ed.), "Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining", pp. 249–259. CAB International, Wallingford, UK.

Bidwell, S.D., 2000. "Hyperaccumulation of metals in Australian native plants". PhD Thesis, University of Melbourne, Australia.

Bisessar, S., 1989. "Effects of lime on nickel uptake and toxicity in cereal grown on muck soil contaminated by a nickel refinery". Science of the Total Environment, 84: 83–90.

Boisson, J., Ruttens, A., Mencha, M., Vangronsveld, J., 1999. "Evaluation of hydroxyapatite as a metal immobilizing soil additive for the remediation of polluted soils. Part 1: Influence of hydroxyapatite on metal exchangeability in soil, plant growth and plant metal accumulation". Environmental Pollution, 104: 225-233.

B.O.E nº 262, 1990. "Real Decreto 1310/1990, de 29 de Octubre, por el que se regula la utilización de lodos de depuración en el sector agrario".

Bolaños, M.M. & Lopez, E.G., 1949. "Jarales y Jaras". Ed. Ares, Madrid.

Brown, S.L., Chaney, R.L., Angle, J.S., Baker, A.J.M., 1994. "Phytoremediation potential of *Thlaspi caerulescens* and bladder campion for zinc and cadmium contaminated soil". Journal of Environmental Quality, 23: 1151– 1157.

Brown, S.L., Chaney, R.L., Angle, J.S., Baker, A.J.M., 1995. "Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* and metal tolerant *Silene vulgaris* grown on sludge amended soils". Environmental Science & Thecnology, 29: 1581–1585.

Cakmak, I. & Marschner, H., 1987. "Mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in cotton III. Changes in physiological availability of zinc in plants". Physiologia Plantarum, 70: 13–20.

Cao, R.L., Huo, W.R., He, Z.L., Hu, A.T., Deng, B., 1993. "A study on controlling Cd pollution in paddy soils in Luo Qiao Township, Dayie County". Chinese Environmental Science, Beijing, 13(6): 433– 439.

Cao, X., Ma, L.Q., Chen, M., Singh, S.P., Harris, W.G., 2002. "Impacts of phosphate amendments on lead biogeochemistry in a contaminated site". Environmental Science & Thecnology, 36: 5296–5304.

Castilho, P.D & Chardon, W.J., 1995. "Uptake of soil cadmium by three field crops and its prediction by a pH-dependent Freundlich sorption model". Plant and Soil, 171: 263–266.

Chaney, R.L, Brown, S.L., Li, Y-M., Angle, J.S., Stuczynski, T.I., Daniels, W.L., Henry, C.L., Siebelec, G., Malik, M., Ryan, J.A., Compton, H., 2000. "Progress in risk assessment for soil metals, and in-situ remediation and phytoextraction of metals from hazardous contaminated soils". En: U.S-EPA (ed.) "Phytoremediation: State of Science ". May 1-2, 2000, Boston, MA.

Chen, Q. & Wong, J.W.C., 2006. "Growth of *Agropyron elongatum* in a simulated nickel contaminated soil with lime stabilization". Science of the Total Environment, 366: 448– 455.

Chlopecka, A. & Adriano, D.C., 1996a. "Mimicked in situ stabilization of metals in a cropped soil: bioavailability and chemical forms of zinc". Environmental Science & Thecnology, 30, 3294-3303.

Chlopecka, A. & Adriano, D.C., 1996b. "Influence of zeolite, apatite and Fe-oxide on Cd and Pb uptake by crops". Science of the Total Environment, 207: 195-206.

Clemente, R., Almela, C., Bernal, M.P., 2006. "A remediation strategy based on active phytoremediation followed by natural attenuation in a soil contaminated by pyrite waste". Environmental Pollution, 143: 397-406.

Conesa, H.M., Schulin, R., Nowack, B., 2007. "A laboratory study on revegetation and metal uptake in native plant species from neutral mine tailings". Water, Air and Soil Pollution: 183: 201–212.

Conesa, H.M., Robinson, B.H., Schulin, R., Nowack, B., 2007. "Growth of *Lygeum spartum* in acid mine tailings: response of plants developed from seedlings, rhizomes and at field conditions". Environmental Pollution, 145: 700-707.

Crooke, W.M., 1956. “Effect of soil reaction on uptake of nickel from a serpentine soil”. Soil Science, 81: 269–276.

Diez Lázaro, J., Kidd, P.S., Monterroso Martínez, C., 2006. “A Phytogeochemical study of the Trás-os Montes region (NE Portugal): Possible species for plant-based soil remediation technologies”. Science of the Total Environment, 354: 265-277.

Ervio, R. & Sippola, J., 1993. “Micronutrient concentration of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) grown on different soils in a pot experiment”. Agricultural Science in Finland, 2: 141–148.

Everhart, J.L., McNear Jr., D., Peltier, E., Van der Lelie, D., Chaney, R.L., Sparks, D.L., 2006. “Assessing nickel bioavailability in smelter-contaminated soils”. Science of the Total Environment, 367: 732–744.

Fayiga, A.O. & Ma, L.Q., 2006. “Using phosphate rock to immobilize metals in soil and increase arsenic uptake by hyperaccumulator *Pteris vittata*”. Science of the Total Environment, 359: 17– 25.

Frank, R., Stonefield, K.I., Suda, P., Potter, J.W., 1982. “Impact of nickel contamination on the production of vegetables on an organic soil, Ontario, Canada, 1980–1981”. Science of the Total Environment, 26: 41–65.

Hooda, P.S., Alloway, B.J., 1996. “The effect of liming on heavy metal concentrations in wheat, carrots and spinach”. Journal of Agricultural Science (Cambridge), 127: 289– 294.

Kidd, P.S. & Monterroso, C., 2003 “Biodisponibilidad de metales en suelos de mina: cambios inducidos por el crecimiento de *Alyssum serpyllifolium ssp lusitanicum”.* Edafologia, 10(1): 33-52.

Kidd, P.S., Diez, J., Monterroso, C., 2004. “Tolerance and bioaccumulation of heavy metals in *Cistus ladanifer* L. *ssp ladanifer* and its potencial for phytoextraction”. Plant and Soil, 258: 189-205.

Kidd, P.S. & Monterroso, C., 2005. “Metal extraction by *Alyssum serpyllifolium ssp lusitanicum* on mine-spoil soils from Spain”. Science of the Total Environment, 336: 1-11.

Kidd, P.S., Becerra Castro, C., García Lestón, M., Monterroso, C., 2007. “Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum L*.”. Ecosistemas, año/vol. XVI, nº 002.

Kukier, U. & Chaney, R.L., 2001. “Amelioration of nickel phytotoxicity in muck and mineral soils”. Journal of Environmental Quality, 30: 1949–1960.

Kukier, U., Peters, C.A., Chaney, R.L., Angle, J.S, Roseberg, R.J., 2004. “The effect of pH on metal accumulation in two *Alyssum* species”. Journal of Environmental Quality, 33: 2090–2102.

Kulli, B., Balmer, M., Krebs, R., Lothenbach, B., Geiger, G., Schulin, R., 1999. “The influence of nitriloacetate on heavy metal uptake of lettuce and ryegrass”. Journal of Environmental Quality, 28: 1699–1705.

Lakanen, E. & Ervio, R., 1971. “A comparison of eight extractans for the determination of plant available micronutrientsin soils”. Acta Agralia Fennica, 123: 223-232.

Laperche, V., Logan, T.J., Traina, S.J., 1997. “Effect of apatite amendments on plant uptake of lead from contaminated soil”. Environmental Science & Thecnology, 31: 2745–2753.

Lasat, M.M., 2000. “The use of plants for the removal of toxic metals from contaminated soil”. American Association for the Advancement of Science. Environmental Science and Engineering Fellow.

Li, Y-M., Chaney, R.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Nelkin, J.P., 2003a. “Phytoextraction of nickel and cobalt by hyperaccumulator *Alyssum* species grown on nickel-contaminated soils”. Environmental Science & Thecnology, 37: 1463–1468.

Li, Y-M., Chaney, R., Brewer, E., Roseberg, R., Angle, J.S., Baker, A., Reeves, R., Nelkin, J., 2003b. “Development of a technology for commercial phytoextraction of nickel: economic and technical considerations”. Plant and Soil, 249: 107–115.

Lorenz, S.E., Hamon, R.E., McGrath, S.P., Holm, P.E., Christensen, T.H., 1994. “Applications of fertilizer cations affect cadmium and zinc concentrations in soil solutions and uptake by plants”. European Journal of Soil Science, 45: 159–165.

Ma, L.Q., Logan, T.J., Traina, S.J., 1995. "Lead immobilization from aqueous solutions and contaminated soils using phosphate rocks". Environmental Science & Thecnology, 29: 1118– 1126.

Ma, L.Q. & Rao, G.N., 1999. "Aqueous Pb reduction in Pb contaminated soils by Florida phosphate rocks". Water, Air and Soil Pollution, 110: 1– 16.

Mitchell, L.G., Grant, C.A., Racz, G.J., 2000. "Effect of Nitrogen application on concentration of cadmium and nutrient ions in soil solution and durum wheat". Canadian Journal of Soil Science, 80: 107–115.

Monterroso Martínez, C., 1995. "Caracterización de los procesos edafogeoquímicos en una escombrera de estériles de lignito en proceso de restauración ambiental". Tesis Doctoral, Universidad de Santiago de Compostela – Departamento de Edafología y Química Agrícola.

Murciego Murciego, A., García Sánchez, A., Rodríguez González, M.A., Pinilla Gil, E., Toro Gordillo C., Cabezas Fernández, J., Buyolo Triguero, T., 2007. "Antimony distribution and mobility in topsoils and plants (*Cytisus striatus, Cistus ladanifer* and *Dittrichia viscosa*) from polluted Sb-mining areas in Extremadura (Spain)". Environmental Pollution, 145: 15-21.

Murphy, J. & Riley, J.P., 1962. "A modified single solution method for the determination of phosphate in natural water". Analytica Chimica Acta, 27: 31–36.

Narwal, R.P., Singh, B.R., Panhwar, A.R., 1983. "Plant availability of heavy metals in a sludge-treated soil: I. Effect of sewage sludge and soil pH on the yield and chemical composition of rape". Journal of Environmental Quality, 12: 358–365.

Olsen, S.R. 1983. "Interacciones de los micronutrientes". En: Montved, J.J., Giordano, P.M., Lindsay W.L., (eds.). "Micronutrientes en la Agricultura", pp. 267–288. AGT Editor, Mexico, DF, Mexico.

Peech, M., Alexander, L.T., Dean, L.A., Deed, J.F., 1947. "Methods of soils analysis for soil fertility investigatons". United States Department of Agriculture - Cir. 757. U.S. Gov. Print. Office, Washington, DC.

Pratas, J., Prasad, M.N.V., Freitas, H., Conde, L., 2005. "Plants growing in abandoned mines of Portugal are useful for biogeochemical exploration of arsenic, antimony, tungsten and mine reclamation". Journal of Geochemical Exploration, 85: 99–107.

Proctor, J., Phillipps, C., Duff, G.K., Heaney, A., Robertson, F.M., 1989. "Ecological studies on Gunung Silam, a small ultrabasic mountain in Sabah, Malaysia: II. Some forest processes". Journal of Ecology, 77: 317-331.

Reeves, R.D. & Baker, A.J.M., 2000. "Metal-accumulating plants". En: Raskin, I., Ensley, B.D. (eds.), "Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment", pp. 193-229. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Reeves, R.D., Schwartz, C., Morel, J.L., Edmondson, J., 2001. "Distribution and metal-accumulating behaviour of *Thlaspi caerulescens* and associated metallophytes in France". International Journal of Phytoremediation, 3: 145–172.

Robinson, B.H., Chiarucci, A., Brooks, R.R., Petit, D., Kirkman, J.H., Grgg, P.E.H., DeDominicis, V., 1997. "The nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii* as a potencial agent for phytoremediation and phytomining of nickel". Journal of Geochemical Exploration, 59: 75-86.

Rodríguez-Ortíz, J.C., Valdez-Cepeda, R.D., Lara-Mireles, J.L., Rodríguez-Fuentes, H., Vázquez-Alvarado, R.E., Magallanes-Quintanar, R., García-Hernández, J.L., 2006. "Soil Nitrogen fertilization effects on phytoextraction of Cadmium and Lead by tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)". Bioremediation Journal, 10(3): 105–114.

Schwartz, C., 1997. "Phyoextraction des métaux des sols pollués par la plante hyperaccumulatrice *Thlaspi caerulescens*". Thése de Doctorat de l'INPL, Institut National Polytechnique de Lorraine., Nancy, France.

Schwartz, C., Echevarria, G.J., Morel, L., 2003. "Phytoextraction of cadmium with *Thlaspi caerulescens"*, Plant and Soil, 249: 27-35.

Simon, L., 2005. "Stabilization of metals in acidic mine spoil with amendments and red fescue (*Festuca rubra* L.) growth". Environmental Geochemistry and Health, 27: 289–300.

Sirguey, C., Schwartz, C., Morel. J.L., 2006. “Response of *Thlaspi caerulescens* to Nitrogen, Phosphorus and Sulfur fertilisation”. International Journal of Phytoremediation, 8:149–161.

Wang, A.S., Angle, J.S., Chaney, R.L., Delorme, T.A., Reeves, R.D., 2006. “Soil pH effects on uptake of Cd and Zn by *Thlaspi caerulescens*”. Plant and Soil, 281: 325-33.

Wu, L.H., Li, H., Luo, Y.M., Christie P., 2004. “Nutrients can enhance phytoremediation of copper-polluted soil by Indian mustard”. Environmental Geochemistry and Health, 26: 331-335.

Zhao, F.J., Shen, Z.G., McGrath, S.P., 1998. “Solubility of zinc and interactions between zinc and phosphorus in the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*”. Plant, Cell and Environment, 21: 108–114.

CAPÍTULO 5

RESISTENCIA Y BIOACUMULACIÓN DE ZINC EN DIFERENTES PLANTAS AUTÓCTONAS TOLERANTES A METALES

Resumen:

La fitocorrección representa una serie de técnicas económicamente atractivas y no destructivas para la recuperación de suelos contaminados en Zn, entre las que se incluye la fitoextracción. Sin embargo, se conocen pocas especies hiperacumuladoras de Zn para su uso en este tipo de técnicas. En muchas ocasiones, especies nativas metalófitas y pseudometalófitas no hiperacumuladoras pueden resultar muy efectivas en la revegetación y estabilización de suelos contaminados, impidiendo la transferencia de los metales hacia la cadena trófica. En este capítulo se evalúan tres especies pseudometalófitas para su uso potencial en fitocorrección: *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae)*, Cytisus scoparius* (L.) Link. (Fabaceae) y *Salix viminalis* L. (Salicaceae). En *C. ladanifer* se consideran además dos poblaciones diferentes, una originaria de un área serpentinítica ("S") y otra procedente de sustrato esquistoso ("SC"), con el objetivo de cuantificar las posibles diferencias entre poblaciones. Las plantas fueron cultivadas en macetas con sustratos elaborados artificialmente que representan suelos no contaminados (NC) (control), ligeramente contaminados (LC) (350 mg kg^{-1} Zn), moderadamente contaminados (MC) (700 mg kg^{-1} Zn) y fuertemente contaminados (FC) (1400 mg kg^{-1} Zn). Las especies estudiadas difirieron en su capacidad de acumular Zn y presentaron patrones de acumulación diferentes ($P<0.05$). Entre las poblaciones de *C. ladanifer* no existieron, sin embargo, diferencias significativas de acumulación, aunque sí en la tolerancia y producción de biomasa, demostrando la importancia de una adecuada selección de la población en los procesos de fitocorrección. La mayor acumulación de Zn fue obtenida en *S. viminalis*, con máximos en sustratos MC que suponen una media en torno a 1400 mg kg^{-1} en hojas. *Cistus ladanifer* presentó valores de acumulación de Zn inferiores, con valores medios en torno a 500 mg kg^{-1} en hojas, independientemente del nivel de contaminación. *Cytisus scoparius* se mostró como una especie exclusora de Zn, y mantuvo niveles por debajo de 80 mg kg^{-1} de Zn en su parte aérea independientemente del nivel de contaminación del sustrato. El análisis de suelos no rizosféricos y de rizosfera indicó que no existen diferencias en cuanto a la acidificación y exudación de compuestos orgánicos entre las distintas especies estudiadas que puedan explicar la diferente movilización y acumulación de Zn en sus tejidos vegetales. En adición, no se encuentra una correlación significativa entre el incremento rizosférico del Zn biodisponible y la acumulación de Zn en los tejidos vegetales, por lo que en la acumulación también deben estar implicados distintos mecanismos fisiológicos. Los resultados en cuanto a la tolerancia y acumulación de Zn mostraron a *S. viminalis* y a *C. ladanifer* (exclusivamente la población "SC") como especies potencialmente utilizables en procesos de fitoextracción de suelos con una contaminación en Zn de ligera a moderada, reduciendo significativamente su rendimiento a niveles elevados de contaminación debido a la aparición de efectos tóxicos. *Cytisus scoparius* se mostró como una especie especialmente apropiada en procesos de revegetación y fitoestabilización de suelos contaminados en Zn, presentándose como una especie exclusora con gran tolerancia y producción de biomasa dentro de un amplio rango de contaminación. En adición, dado que se trata de una especie leguminosa fijadora de N, podría facilitar la estabilización de la vegetación y promover el mantenimiento de la cobertura vegetal en suelos contaminados pobres en nutrientes como pueden ser los suelos mineros.

1. INTRODUCCIÓN

El contenido en zinc de los suelos depende, fundamentalmente, de la naturaleza del material original (Kabata-Pendias & Pendias, 1992), aunque también influyen factores como la materia orgánica, la textura y el pH (Adriano, 2001). En suelos no contaminados la concentración de zinc total es de 10-300 mg kg^{-1}, con un promedio de 50 mg kg^{-1} (Lindsay, 1972). Sin embargo, el vertido inadecuado de residuos, la utilización de determinados compuestos en la agricultura (fertilización y adición de lodos), las extracciones mineras y las actividades industriales dedicadas principalmente a la galvanización del hierro y el acero y a la producción de latón, incrementan el contenido en zinc de los suelos por contaminación (Adriano, 2001; Chaney, 1993; Alloway, 1995). La consecuencia directa es la eliminación de la vegetación o la pérdida de su productividad y la disminución de la biodiversidad; indirectamente se produce la dispersión del contaminante a través del aire y las aguas superficiales y subterráneas (Bradshaw, 1993; Wong, 2003), pudiendo llegar a zonas de cultivo. A pesar de que el zinc se considera un elemento esencial involucrado en numerosas funciones fisiológicas y que no presenta un gran interés desde el punto de vista toxicológico (Kiekens, 1995), la ingestión de dosis moderadamente elevadas durante períodos de tiempo más o menos largos puede provocar alteraciones graves en la salud (Saltzman et al., 1990; Van Campen, 1991; Rubio et al., 2007).

La fitoextracción de Zn en suelos contaminados se muestra como una solución atractiva desde un punto de vista económico y ambiental que permite una recuperación de los suelos y evita los problemas asociados con su riesgo toxicológico para el medio ambiente y la propia salud humana. Sin embargo, en comparación con el número de especies hiperacumuladoras de Ni, se conocen relativamente pocas especies de plantas capaces de hiperacumular Zn en sus partes aéreas. Baker et al. (2000) listó 11 taxones hiperacumuladores de Zn, entre la que se encuentra la especie hiperacumuladora probablemente más conocida y estudiada, *Thlaspi caerulescens*. La escasez de plantas hiperacumuladoras de Zn supone la existencia de pocas alternativas en la elección de especies para su cultivo durante los procesos de fitoextracción en suelos contaminados. Ello puede derivar en un descenso en el rendimiento del proceso por una excesiva dependencia de las especies conocidas a determinadas condiciones estacionales, climáticas o edáficas, o bien por una mayor afección por plagas y enfermedades de las plantas locales. En adición, se debe considerar en muchas ocasiones que el cultivo de especies no nativas puede provocar serios problemas en cuanto a la colonización de zonas ajenas a los suelos a restaurar y su expansión como malas hierbas, así como mediante la introducción de microorganismos asociados que compiten con la microflora del suelo y las plantas indígenas (Angle & Linacre, 2005). Por todo ello, persiste un interés en la búsqueda de especies vegetales nativas, adaptadas a condiciones climáticas locales, que presentan tolerancia y que son capaces de colonizar suelos enriquecidos en metales (Shu et al., 2002; Archambault & Winterhalder, 1995; Wierzbicka, 1999; Monni et al., 2000). En base a esta búsqueda, a pesar de que la promoción de la fitoextracción como fitotecnología comercial

se basa en el empleo de plantas hiperacumuladoras (Chaney et al., 2005), otras especies metalófitas y pseudometalófitas no hiperacumuladoras pueden resultar efectivas en la revegetación y estabilización de suelos contaminados por el bajo coste de mantenimiento y la restricción de los metales hacia la cadena trófica (Frérot et al., 2006; Freitas et al., 2004; Sengupta, 1993; Johnson et al., 1994).

Especies vegetales como *Salix viminalis, Cistus ladanifer* y *Cytisus scoparius* han sido contrastadas en diversos trabajos como especies pseudometalófitas capaces de colonizar y crecer sobre suelos con altas concentraciones en Zn. *Salix viminalis* es una especie de reconocido potencial fitocorrector, con capacidad de acumular altas cantidades de Cd y Zn (Landberg & Greger, 1996; Vandecasteele et al., 2002; Punshon & Dickinson, 1997; Stoltz & Greger, 2002; Rosselli et al., 2003; Vandecasteele et al., 2004; Hamer et al., 2003; Meers et al., 2005). Se trata de una especie arbórea de crecimiento rápido ampliamente distribuida por toda la Península Ibérica y gran parte de Europa, y su aplicabilidad en la fitoestabilización de sedimentos dragados o en la fitoextracción de metales pesados se ha comprobado en numerosas ocasiones (Dickinson et al., 1994; Punshon & Dickinson, 1997; Vervaeke et al., 2001; Meers et al., 2003; Pulford et al., 2002). La posibilidad de valorizar la biomasa producida para la producción de energía es una ventaja añadida, de manera que en la actualidad las especies de *Salix* llegan a ser ampliamente utilizadas para la producción de energía en países como el Reino Unido (Martin & Stephens, 2006). En adición, nuevos procesos biotecnológicos desarrollados en Canadá (Proceso Iotech) permiten el aprovechamiento de la biomasa de *Salix* para producir etanol como combustible que potencialmente puede reemplazar al petróleo, obteniendo además un producto secundario que sirve de suplemento alimenticio para animales (McElroy & Dawson, 1986). *Cistus ladanifer* y *C. scoparius,* por su parte, son arbustos ampliamente distribuidos por la región mediterránea occidental capaces de crecer en un amplio rango de latitud, altitud y clima dentro de Europa, Norte de África y Oeste de Asia. En este caso, su gran tolerancia y adaptabilidad a diferentes tipos de suelos las convierte en especies pioneras en la ocupación de suelos esqueléticos pobres en nutrientes, en el caso de *C. ladanifer* ligeramente ácidos en áreas de baja pluviosidad (Bolaños & López, 1949). Tanto *C. ladanifer* (Albarenga, 2004; Pratas et al., 2005; Murciego et al., 2006) como el género *Cytisus* (Murciego et al., 2006; Madruga et al., 2001; Rodríguez-García, 2004) se han detectado en numerosas ocasiones sobre suelos mineros fuertemente contaminados en metales pesados, y aparecen incluso sobre suelos serpentiníticos caracterizados por la presencia de altos niveles de Ni, Cr y Co (Alados et al., 1999; Díez et al., 2006; Freitas et al., 2004). La acumulación y tolerancia de *C. ladanifer* hacia ciertos metales como el Zn ha sido a su vez demostrada en condiciones naturales y creciendo sobre cultivos hidropónicos (Díez et al., 2006; Kidd et al., 2004). En adición, son especies que presentan igualmente un posible aprovechamiento económico, como es la extracción del ládano de las hojas de *C. ladanifer*, una esencia utilizada en perfumería y de la que España es uno de los principales exportadores del mundo. El aprovechamiento económico de *C. scoparius* puede estar relacionado con la extracción de

flavona, con usos diuréticos, hipnóticos, sedantes (Siegel, 1976; Bhakuni, 1969), diabéticos (Castro, 1998), y contra enfermedades del hígado (Rivera & Ovon, 1995). Recientemente se ha demostrado una actividad antioxidante que puede ayudar en la prevención y ralentización de algunas enfermedades degenerativas como la arteriosclerosis, cirrosis y cáncer (Sundararajan et al., 2006).

El estudio de los mecanismos de tolerancia y los patrones de bioacumulación de metales en este tipo de especies, así como la evaluación de su capacidad de tolerancia a elevadas concentraciones de Zn en el sustrato de crecimiento, debe resultar, por tanto, de gran interés desde el punto de vista de la fitocorrección de los suelos contaminados en este metal (Freitas et al., 2004; Brooks, 1983; Badri & Springuel, 1994; Baker et al., 1994; McInnes et al., 1996). En este sentido, Baker (1981) clasificó a las plantas metalófitas y pseudometalófitas en tres grupos, según su estrategia de tolerancia y el patrón de bioacumulación en función de la concentración del contaminante en el sustrato de crecimiento. Las plantas acumuladoras concentran el elemento contaminante en la parte aérea de la planta como formas no tóxicas; las plantas indicadoras muestran una absorción y translocación del elemento contaminante regulada de manera que la concentración del elemento en la planta se relaciona directamente con la composición del suelo; y las plantas exclusoras, en las que la concentración del metal en la parte aérea se mantiene baja y constante en un amplio rango de concentración en el suelo por la existencia de procesos que impiden la absorción y/o translocación del metal. La presencia de una u otra estrategia por las plantas tolerantes resulta un factor clave para determinar su aplicabilidad en los procesos de fitocorrección, de manera que aquellas plantas con un nivel de acumulación elevado en su parte aérea son potencialmente fitoextractoras, mientras que las especies exclusoras se muestran como plantas ideales en procesos de fitoestabilización (Blaylock et al., 1995; Schnoor, 1997; Cunningham et al., 1997; Raskin & Ensley, 2000; Mendez & Maier, 2008). De acuerdo con Farago & Merha (1991) existen tres relaciones de concentración diferentes de gran relevancia en la evaluación de las especies tolerantes potencialmente fitocorrectoras. La relación $[Metal]_{Raíz}$:$[Metal]_{Suelo}$ aporta información de la disponibilidad y absorción de un elemento dado por parte de las plantas; la relación $[Metal]_{Hojas}$:$[Metal]_{Raíz}$ da información sobre la transferencia del elemento entre la raíz y la parte aérea de la planta; finalmente, la relación $[Metal]_{Hojas}$:$[Metal]_{Suelo}$, que es dependiente de las relaciones mencionadas previamente, nos proporciona información sobre la acumulación del elemento en la planta.

La bioacumulación de Zn en la parte aérea de las plantas no se puede producir si no existe una absorción activa del metal por parte de las raíces. Básicamente, existen dos categorías principales de procesos que ocurren durante el crecimiento de las plantas en sustratos contaminados en metales: movilización y bioacumulación (Clemens et al., 2002). La movilización es inducida por las raíces de las plantas y la actividad microbiana, y se liberan metales de las fracciones relativamente inertes hacia las fracciones intercambiables

biodisponibles más móviles (Jefferey & Uren, 1983; Levesque & Mathur, 1986; Hamon et al., 1995). Ello implica que los iones metálicos alcancen la zona de absorción de la raíz por difusión a través de la disolución del suelo, que son arrastrados por el movimiento del agua hacia la raíz, o entran en contacto con las zonas de absorción a medida que la raíz crece (Fernández & Maldonado, 2000). La bioacumulación, por su parte, reduce la fracción intercambiable biodisponible por la absorción de metales de la disolución del suelo y es, por ello, totalmente dependiente de la movilización.

Actualmente no hay un consenso sobre los procesos rizosféricos que aumentan o estimulan la fuente de metales biodisponibles durante el proceso de movilización, aunque se asume que los factores más influyentes son los cambios de pH inducidos por la raíz, la complejación de metales por los exudados radiculares y la inducción radicular de actividad microbiana (Ernst, 1996; McLaughlin et al., 1998; Gobran et al., 1998; Assadian & Fenn, 2001; El-Shatnawi & Makhadmeh, 2001). La capacidad de movilización y las formas químicas de micronutrientes que son preferentemente absorbidas parecen variar, en cualquier caso, con el tipo de planta (Laurie & Manthey, 1994). En este sentido, la exudación radicular de las especies hiperacumuladoras debe influir en la especiación de diferentes metales e incrementar las formas biodisponibles (Hammer & Keller, 2002), aumentando la concentración de iones metálicos en la disolución del suelo. McGrath et al. (1997) o Knight et al. (1997), por ejemplo, mostraron que el 90-99% del Zn total absorbido por la hiperacumuladora *Thlaspi caerulescens* procedía de fracciones no móviles (no solubles o intercambiables) de la fase sólida. Un mayor conocimiento de los factores de la rizosfera que influyen en el fraccionamiento y biodisponibilidad de los metales podría resultar clave en el entendimiento del fenómeno de bioacumulación y fitoextracción. Es necesario preguntarse, por tanto, cómo la química del suelo es influenciada por la presencia de raíces, si la química del suelo varía entre especies o poblaciones con alta o baja capacidad de acumulación de metales y si los mecanismos son específicos del metal contaminante o de su concentración.

El presente trabajo trata de determinar la estrategia y capacidad de tolerancia y acumulación de Zn en tres especies pseudometalófitas (*Salix viminalis* L. (Salicaceae)*, Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae) y *Cytisus scoparius* (L.) Link. (Fabaceae)) creciendo sobre sustratos con diferentes niveles de contaminación (ligera/moderada/fuerte). En el caso de *C. ladanifer* se pretende comprobar también la influencia del factor poblacional, al emplear una población metalófita procedente de suelos serpentiníticos y una población no metalófita procedente de suelos con esquistos como material original. En adición, se pretende determinar las variaciones físico-químicas que tienen lugar en la rizosfera de cada una de las especies/poblaciones y su influencia sobre la fracción de Zn biodisponible y la capacidad de bioacumulación de Zn en cada caso. En base a los resultados obtenidos se evaluará la posible utilidad de las especies estudiadas en procesos de fitocorrección de suelos con diferentes niveles de contaminación en Zn.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Sustratos de crecimiento

Para la realización del ensayo se han utilizado sustratos de crecimiento artificialmente preparados utilizando como base un suelo ácido procedente de los horizontes A/B de un Cambisol húmico desarrollado sobre granito, mezclándolo con distintas proporciones de suelos contaminados procedentes de la mina de Pb/Zn de Rubiais (Lugo).

Las mezclas realizadas fueron llevadas a cabo para conseguir cuatro sustratos de crecimiento con propiedades físico-químicas similares pero con niveles crecientes en Zn, con unas concentraciones teóricas en torno a <60, 300, 700 y 1400 mg kg^{-1} (Tabla 1). Los sustratos obtenidos, catalogados como sustratos no contaminados (NC), ligeramente contaminados (LC), moderadamente contaminados (MC) y fuertemente contaminados (FC), fueron encalados hasta pH 5, fertilizados con 50 mg kg^{-1} de N mediante la adición de NH_4NO_3 y ajustados al 80% de su capacidad de retención de agua, almacenándolos durante 4 semanas hasta que alcanzaron condiciones de equilibrio. Tanto los valores de pH finales obtenidos en los sustratos de crecimiento como el nivel de fertilización empleado suponen un crecimiento óptimo para *C. ladanifer*, tal y como se mostró en estudios previos (Cap. 4 de esta tesis).

Tabla 1.- Características físico-químicas generales de los sustratos de crecimiento utilizados en el ensayo tras su encalado y fertilización (NC – No contaminado / LC – Ligeramente contaminado / MC – Moderadamente contaminado / FC – Fuertemente contaminado).

	NC	LC	MC	FC
pH_{H2O}	4.9	4.8	5.0	5.1
pH_{KCl}	4.6	4.5	4.5	4.5
C (%)	1.4	1.3	1.1	1.3
N (%)	0.09	0.08	0.07	0.08
C:N	15.5	16.2	15.7	16.2
Cationes de cambio (NH_4Cl 1N), cmol(+) kg^{-1}				
Ca^{2+}	2	1.1	1.1	1
Mg^{2+}	0.1	0.27	0.26	0.3
Na^{+}	0.04	0.04	<0.04	<0.04
K^{+}	0.1	0.09	0.08	0.07
Al^{3+}	0.5	0.9	0.8	0.8
CICe	2.7	2.5	2.3	2.2
Ca:Mg CIC	16.1	4.17	4.4	2.9
Concentración de metal, mg kg^{-1}				
Zn Total	66	220	710	1070
Zn EDTA	2.2	9	23.5	52.5

Material vegetal y condiciones de crecimiento

Las semillas de *C. ladanifer* empleadas en el ensayo fueron recolectadas en la región de Tras-Os-Montes (NE Portugal). Las semillas proceden de dos poblaciones que mostraron diferencias en cuanto a la acumulación de Zn en condiciones naturales (Cap. 2 de esta tesis): una población metalófita procedente de suelos serpentiníticos con elevados niveles de Ni, Cr y Co ("S") (UTM 29T 0687274/6627907) y una población desarrollada sobre suelos derivados de esquistos ("SC") (UTM 29T 0687210/4638890). Las semillas fueron conservadas en oscuridad a temperatura ambiente hasta su utilización. Las plantas de *S. viminalis* fueron obtenidas a partir de esquejes extraídos de individuos existentes en el área afectada por la explotación de sulfuros de Cu/Zn de Arinteiro, en Touro (A Coruña) (UTM 0555215/4747965). Esta zona minera se caracteriza por la existencia de aguas de escorrentía fuertemente acidificadas (pH en torno a 3) y concentraciones elevadas de Cu, Mn, Ni y Zn en los suelos (hasta 2000, 3255, 50 y 185 mg kg^{-1}, respectivamente) (Pérez-Otero, 1992). Finalmente, los esquejes de *Cytisus scoparius* procedieron de individuos localizados en la zona de escombrera de la explotación minera de Pb/Zn de Rubiais (Lugo) (UTM 0660781/4726801), que presenta suelos con concentraciones de Pb, Zn y Cd de hasta 3730, 13600 y 26 mg kg^{-1}, respectivamente (Cap. 3 de esta tesis).

Plántulas de un mes de edad de las dos poblaciones de *C. ladanifer* ("S" y "SC"), previamente germinadas en un semillero en condiciones adecuadas de irrigación y luz, y esquejes de tamaño similar, de unos 15-20 cm, en el caso de *C. scoparius* y *S. viminalis*, fueron transplantados sobre los sustratos de crecimiento preparados. Sobre los esquejes utilizados se provocó previamente el crecimiento radicular, en el caso de *C. scoparius* mediante la aplicación de una hormona de enraizamiento en suelo de jardinería y en el caso de *S. viminalis* se desarrolló en una solución hidropónica con composición (μM): 2000 $CaCl_2.2H_2O$, 1000 $MgSO_4.7H_2O$, 250 NH_4NO_3, 50 KH_2PO_4, 200 NaOH, 150 KCl, 25 $ZnSO_4.7H_2O$, 20 $MnSO_4.H_2O$, 15 $CuSO_4.5H_2O$, 15 FeEDTA, 10 H_3BO_3, 0.0143 $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ (Kidd et al., 2004). En todos los casos se produjo una sustitución de los individuos muertos durante los primeros 10 días desde el transplante.

Las macetas utilizadas fueron rellenadas con 1.5 kg de sustrato y presentaron un área superficial de aproximadamente 201 cm^2, con un total de 10 réplicas para cada una de las cuatro especies/poblaciones y niveles de contaminación (entre 5 y 10 en el caso de *C. scoparius*). Las plantas fueron mantenidas durante 18 semanas en un invernadero en régimen natural día/noche entre los meses de Julio y Noviembre de 2004 mediante riego periódico con agua destilada para mantener el sustrato en condiciones adecuadas de humedad.

Análisis de suelos (no rizosférico y rizosfera) y plantas

El sustrato de cada maceta fue retirado tras la recolección de las plantas. El suelo rizosférico fue separado del suelo no rizosférico mediante la agitación de las raíces tras un

breve período de secado. El suelo pegado a la raíz (0-3 mm) se consideró como suelo rizosférico. El número de réplicas tanto de plantas como de rizosfera se redujo a 5 mediante la mezcla de dos réplicas por especie/población y nivel de contaminación, consiguiendo en cada caso el volumen de muestra necesario para la realización de los análisis.

Los suelos rizosféricos y no rizosféricos fueron analizados en cuanto a pH, C_{Total}, N_{Total}, Carbono Orgánico Disuelto (DOC), CIC, $[Zn]_{Total}$, $[Zn]_{EDTA}$, y especiación de Zn (fracción < 2 mm). El pH fue medido en agua y KCl 0.1 M manteniendo una relación suelo:disolución de 1:2.5. El contenido en C_{Total} y N_{Total} fue determinado en suelo molido con un analizador LECO CHN-1000 (LECO Corp., St Joseph, MI). La cantidad de DOC fue obtenida en un equipo de flujo marca Flowsys (Continuous flow analyzer) tras una extracción con agua destilada durante 16 horas en una proporción suelo:disolución 1:2.5 y posterior filtrado por 0.45 µm. Los cationes de cambio se extrajeron con NH_4Cl 1N (Peech et al., 1947) y en el extracto se midió Ca, Mg, Na, K y Al por espectrofotometría de absorción/emisión atómica de llama (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT). El contenido total de Zn fue obtenido en una digestión ácida (HNO_3+HCl) de la muestra molida en horno microondas, mientras que la fracción biodisponible de Zn en una extracción en la fracción de suelo <2mm con EDTA 0.02 M + CH_3COONH_4 0.5 M a pH 4.65 (Lakanen & Ervio, 1971; Ure et al., 1993). La especiación de Zn fue determinada por el método de extracción secuencial BCR de la "Community Bureau of Reference" (Gleyzes et al., 2002; Rauret et al., 1999), que diferencia entre: fracción ligada al complejo de cambio y carbonatos, fracción reducible (ligada a los óxidos de Fe y Mn), fracción oxidable (ligada a materia orgánica y sulfuros) y fracción residual (ver protocolo en Cap. 3 de esta tesis). En todos los extractos se determinó el contenido en Zn por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT).

En las plantas se determinó el número de hojas (totales:secas), número de tallos secundarios, longitud de tallos, longitud de raíces y peso fresco de raíz, tallo y hojas. Cada una de las partes fue lavada mediante chorro de agua del grifo y posteriormente con agua destilada. El lavado de las raíces se completó mediante el empleo de ultrasonidos en tandas de 15 minutos, tantas veces como se estimó necesario para la completa limpieza del tejido. Todo el material vegetal fue secado en una estufa a 60 ºC para la posterior obtención del peso seco. Hojas, tallos y raíces fueron triturados y digeridos mediante una mezcla ácida de HNO_3+HCl en un digestor de calor para la determinación del contenido en Zn mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT).

Tratamiento estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 12.0. En ellos no se consideraron los valores extremos, que fueron eliminados del análisis. Los parámetros de crecimiento y concentración en Zn de las especies/poblaciones dentro de cada nivel de contaminación, así como entre los distintos niveles de contaminación, fueron comparados mediante un análisis de

varianza de un factor (ANOVA) (P<0.05). Mediante el test "post-hoc" Scheffe se realizó una comparación múltiple de medias. Estos análisis fueron utilizados también con los parámetros rizosféricos entre especies/poblaciones y entre niveles de contaminación para una misma especie/población. Las diferencias entre las dos poblaciones de *C. ladanifer* y las variaciones de los parámetros físico-químicos entre suelo y rizosfera fueron analizadas mediante una t de Student para muestras independientes (P<0.05). Las relaciones entre los parámetros de acumulación y los parámetros físico-químicos de la rizosfera fueron evaluadas mediante un análisis de correlación con la comparación del coeficiente de correlación de Pearson (P<0.05).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de biomasa y tolerancia al Zn

La tolerancia de la vegetación frente al exceso de metal en el sustrato de crecimiento suele relacionarse directamente con distintos parámetros de crecimiento. De hecho, el crecimiento de la raíz se considera como un indicador especialmente sensible a la toxicidad metálica (Vandecasteele et al., 2005; Kahle, 1993; Punshon & Dickinson, 1997; Watson et al., 1999; Landberg & Greger, 2002; Sottníková et al., 2003). El índice de tolerancia (TI) se definió como la relación, en porcentaje, entre la longitud de la raíz en un medio contaminado y la longitud de la raíz en un medio no contaminado (Wilkins, 1978), y suele ser utilizado en ensayos con cultivos hidropónicos (Shu et al., 2002, Kidd et al., 2004). Otros autores utilizaron otros parámetros como el peso seco de la parte aérea para el cálculo del TI (Kuzovkina et al., 2004; Watson et al., 2003; Dos Santos Utmazian et al., 2007). Estos parámetros pueden resultar más fiables en ensayos de maceta.

En la figura 1 se muestra la producción de biomasa aérea y radicular (peso seco) de las especies/poblaciones estudiadas tras 18 semanas de crecimiento en los sustratos con diferentes niveles de contaminación en Zn. La producción de biomasa en todas las especies/poblaciones estudiadas se vio afectada significativamente (P<0.05) por el contenido en Zn de los sustratos, con una reducción generalizada de biomasa en los suelos contaminados frente a los no contaminados debido a la toxicidad del metal (Figura 1). En *C. scoparius*, no obstante, la reducción de biomasa fue menor, únicamente significativa (P<0.05) en suelos FC. Cabe destacar, en adición, la existencia de diferencias significativas (P<0.05) en la producción de biomasa aérea entre las dos poblaciones de *C. ladanifer*. En los suelos LC y MC la población "SC" de *C. ladanifer* obtuvo una biomasa en torno a 2-3 veces mayor que la población "S". Por el contrario, en suelos FC, no hay diferencias significativas (P<0.05) de biomasa entre ambas poblaciones, probablemente por la aparición de efectos tóxicos. En cualquier caso, estos resultados demuestran la existencia de diferencias genéticas naturales en cuanto a la producción de biomasa entre la población "S" y la población "SC" de *C. ladanifer*.

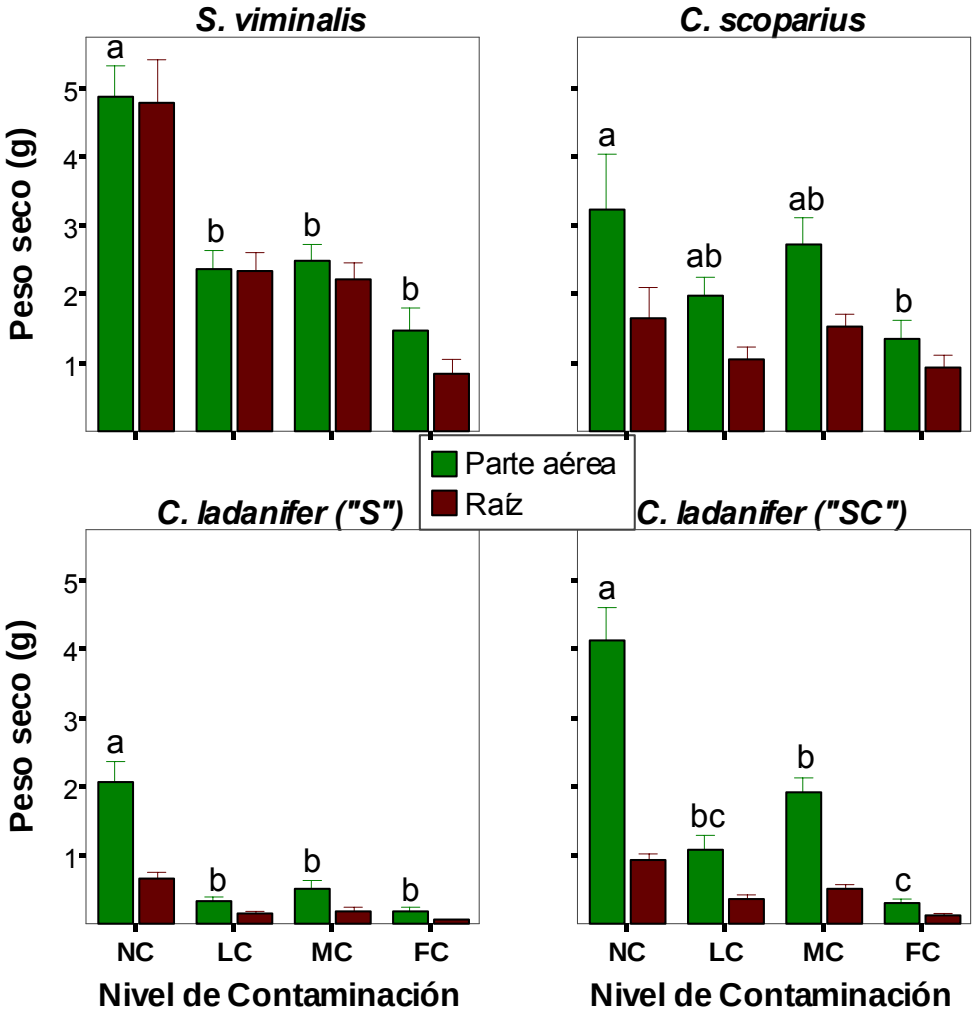

Figura 1.- Producción de biomasa (g. peso seco) de S. viminalis, C. scoparius y las dos poblaciones de C. ladanifer ("S" y "SC") creciendo sobre sustratos con diferentes niveles de contaminación en Zn (No contaminado (NC), ligeramente contaminado (LC), moderadamente contaminado (MC) y fuertemente contaminado (FC)). Las letras representan diferencias significativas (p<0.05) en producción de biomasa aérea entre niveles de contaminación dentro de cada especie/población.

Tabla 2.- Índices de tolerancia (TI) de las especies/poblaciones estudiadas en diferentes niveles de contaminación en Zn de los sustratos de crecimiento (No contaminado (NC), ligeramente contaminado (LC), moderadamente contaminado (MC) y fuertemente contaminado (FC)). TI= (biomasa aérea sustrato contaminado / biomasa aérea sustrato control) * 100

	NC	LC	MC	FC
S. viminalis	100%	48%*	51%*	30%*
C. scoparius	100%	62%	85%	42%*
C. ladanifer ("S")	100%	17%*	26%*	9%*
C. ladanifer ("SC")	100%	26%*	47%*	7%*

**** Indica valores significativamente diferentes al NC (P<0.05).***

En la tabla 2 se presentan los índices de tolerancia (TI) calculados en base al peso seco medio de la parte aérea de las diferentes especies/poblaciones. De acuerdo con la figura 1, los valores del TI muestran como *C. scoparius* presenta la mayor tolerancia al Zn a niveles de contaminación de ligera a moderada (LC/MC), de manera que la reducción de biomasa respecto al control es únicamente significativa ($P<0.05$) en suelos FC, con un TI de 42%. *Cistus ladanifer*, por el contrario, presenta de manera generalizada la menor tolerancia al Zn independientemente del nivel de contaminación considerado, y muestra una reducción significativa ($P<0.05$) de biomasa respecto al control ya desde niveles de contaminación ligera (LC) (Figura 1). La población "SC" tiende a mostrar una mayor tolerancia al Zn que la población "S" en sustratos con contaminación de ligera a moderada (LC/MC), a pesar de tratarse esta última de una población metalófita adaptada a altos niveles de metales como Ni, Cr y Co. Esto parece indicar la implicación de mecanismos de tolerancia diferentes para el caso del Zn frente a los involucrados en la tolerancia del esos metales. Los resultados mostrados están de acuerdo con trabajos previos realizados en cultivos hidropónicos (Kidd et al., 2004), de manera que la población "SC" crece en suelos más ácidos donde la disponibilidad del Zn es mayor, y parece que las plantas están adaptadas a ello para competir con otras especies. Los valores de TI de la población "SC" en sustratos LC y, principalmente en sustratos MC, se muestran cercanos a los alcanzados por la conocida acumuladora de Zn *S. viminalis* (Tabla 2). En esta especie, al igual que en *C. ladanifer*, se produce una reducción significativa ($P<0.05$) de biomasa en sustratos contaminados, independientemente del nivel de contaminación, respecto al sustrato control (NC) (Figura 1). Esta especie mantiene un TI en torno a un 50% que tiende a bajar de manera no significativa ($P<0.05$) en sustratos FC hasta un 30%, apareciendo en este caso efectos tóxicos que no son tan marcados como en *C. ladanifer* (con valores de TI entre 7-9%). Estos resultados coinciden parcialmente con los obtenidos por Vandecasteele et al. (2005) utilizando un clon de *Salix viminalis* (Aage). Estos autores indican que no existe una inhibición del crecimiento de *S. viminalis* en suelos contaminados en metales pesados con concentraciones de hasta 41 mg kg^{-1} Cd, 1914 mg kg^{-1} Cr, 2422 mg kg^{-1} Zn y 655 mg kg^{-1} Pb, por lo que sería aplicable en procesos de fitoextracción en un amplio rango de sedimentos contaminados.

Bioacumulación de Zn en los tejidos vegetales

Salix viminalis, C. ladanifer y *C. scoparius* muestran patrones de acumulación de Zn significativamente diferentes ($P<0.05$) en función del nivel de contaminación de Zn del sustrato de crecimiento (Figura 2).

Salix viminalis incrementa significativamente ($P<0.05$) la concentración de Zn en su parte aérea con el incremento del nivel de contaminación en el sustrato de crecimiento hasta alcanzar un máximo de acumulación en MC, con un valor medio en hoja de 1424 mg kg^{-1}. En los sustratos FC la acumulación de Zn se ve reducida (aunque no de manera significativa ($P<0.05$)) hasta valores medios en hoja de 794 mg kg^{-1}, indicando un inicio de toxicidad y

corroborando que *S. viminalis* se trata de una especie acumuladora de Zn hasta un cierto nivel de contaminación en el sustrato (Punshon & Dickinson, 1997; Stoltz & Greger, 2002; Roselli et al., 2003). La capacidad de acumulación encontrada en este ensayo en *S. viminalis*, no obstante, puede considerarse elevada comparada con los 128-338 mg kg^{-1} de Zn que propone Vandecasteele et al. (2002) como un rango basal en hoja para el género *Salix*. Las dos poblaciones de *C. ladanifer* presentaron patrones de acumulación de Zn similares. Al igual que *S. viminalis*, mostraron un incremento significativo ($P<0.05$) de la acumulación de Zn en los sustratos contaminados frente a los no contaminados, pero en este caso no existieron diferencias significativas ($P<0.05$) en función del grado de contaminación, con valores de concentración en hoja en torno a 500 mg kg^{-1} de Zn tanto en LC, MC y FC. Ello supone una menor capacidad de acumulación de Zn en *C. ladanifer* que en a *S. viminalis* ($P<0.05$), con concentraciones en la parte aérea entre 1.5 y 2 veces menores a partir de un nivel de contaminación moderado (MC). La capacidad de restringir la acumulación de Zn por parte de *C. ladanifer* a partir de un nivel de contaminación de ligero a moderado permite mantener una concentración de Zn similar en la parte aérea de la planta independientemente del incremento de Zn en el sustrato, y ya fue detectado en trabajos previos sobre cultivos hidropónicos (Kidd et al., 2004).

Los síntomas de toxicidad se detectan usualmente en plantas a partir de los 300 mg/kg en hoja, aunque en muchas ocasiones se encuentran síntomas de toxicidad a una concentración en hoja menor de 100 mg/kg (Chaney, 1993; Marschner, 1995). Tanto *S. viminalis* como *C. ladanifer* presentan, sin embargo, una acumulación de Zn en la parte aérea que supone inicialmente una absorción y acumulación efectiva del metal potencialmente biodisponible existente en los suelos en las raíces, lo que se traduce en valores de índices de absorción (IA) >1 (Tabla 3). La concentración en raíz se incrementa ($P<0.05$) con el nivel de contaminación en el sustrato hasta valores medios máximos en FC de 350 y 232 mg Kg^{-1} de Zn para *S. viminalis* y *C. ladanifer*, respectivamente. El Zn de las raíces es así mismo translocado y acumulado eficientemente desde las raíces hacia los tallos y las hojas, de manera que las concentraciones se van incrementando, desarrollándose un fenómeno de biomagnificación interno dentro de la propia planta. Tanto *S. viminalis* como *C. ladanifer* presentaron una buena eficacia en la translocación de Zn, manteniendo valores del índice de translocación (IT) entre 2 y 4, independientemente del nivel de contaminación (Tabla 3). De los índices de absorción (IA) y translocación (IT) (Tabla 3) se deduce que las diferencias de acumulación entre *S. viminalis* y *C. ladanifer* a partir de un nivel moderado de contaminación (MC) se deben fundamentalmente a la mayor capacidad de absorción de Zn de *S. viminalis*.

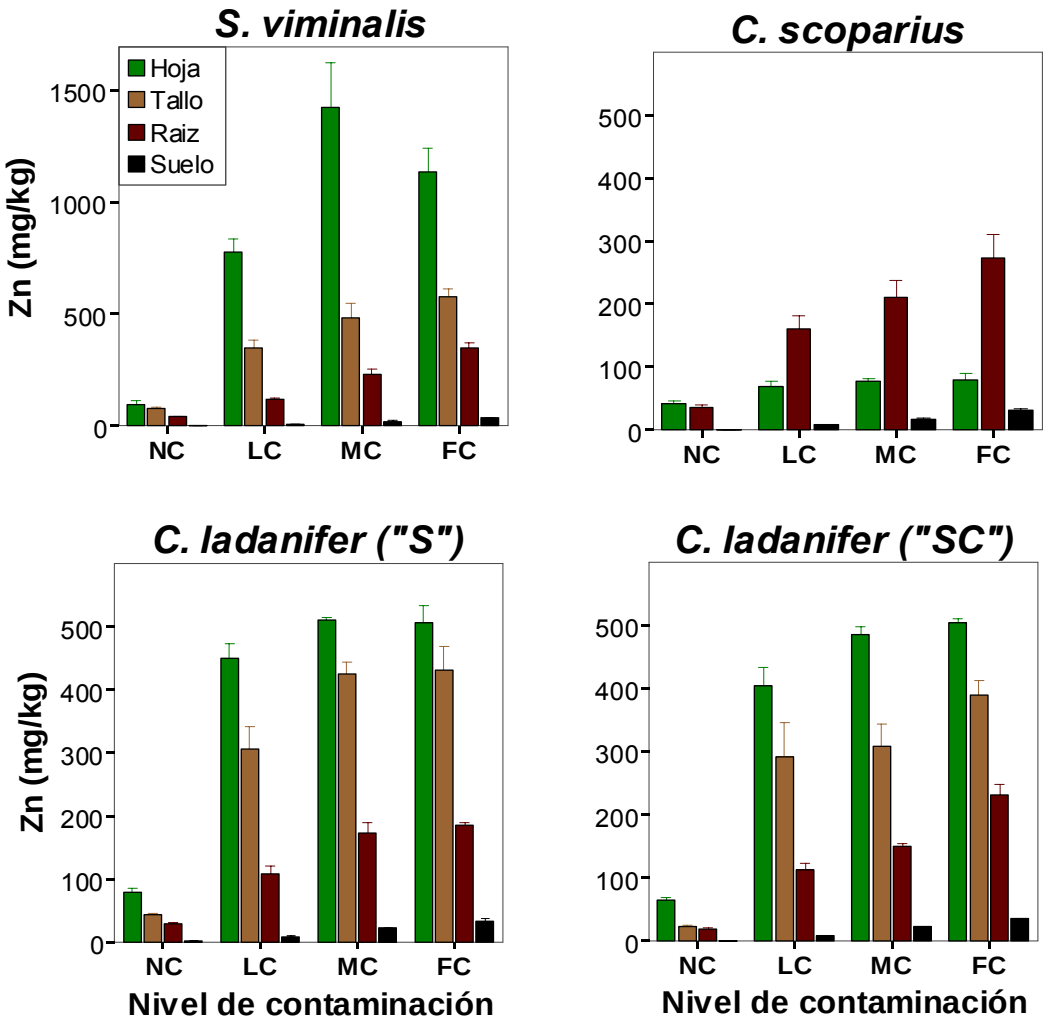

Figura 2.- Concentración de Zn total en hojas, tallo y raíces y de Zn potencialmente biodisponible (extraído en EDTA) en los sustratos de crecimiento en función del nivel de contaminación.

Tabla 3.- Índices de Absorción ($[Zn]_{Raíz}$:$[Zn]_{Suelo(EDTA)}$), Translocación ($[Zn]_{Parte\ aérea}$:$[Zn]_{Raíz}$)y de Bioacumulación ($[Zn]_{Parte\ aérea}$:$[Zn]_{Suelo(EDTA)}$) para las diferentes especies/poblaciones estudiadas en función del nivel de contaminación del sustrato de crecimiento (valores medios).

		NC	LC	MC	FC
S. viminalis					
	Índice Absorción	55.9	23.4	10.8	10.8
	Índice Translocación	2.0	4.0	3.6	2.3
	Índice Bioacumulación	107.9	91.2	39.5	24.4
C. scoparius					
	Índice Absorción	50.7	19.1	12.3	8.8
	Índice Translocación	1.1	0.4	0.4	0.3
	Índice Bioacumulación	56.0	8.4	4.5	2.5
C. ladanifer ("S")					
	Índice Absorción	38.2	12.8	8.4	5.6
	Índice Translocación	2.4	3.5	3.2	2.8
	Índice Bioacumulación	138.2	45.7	25.8	15.7
C. ladanifer ("SC")					
	Índice Absorción	24.8	13.0	7.3	6.3
	Índice Translocación	3.0	3.4	2.7	2.1
	Índice Bioacumulación	67.5	38.5	19.8	12.8

Cytisus scoparius, por su parte, muestra un patrón de acumulación totalmente diferente al de *S. viminalis* y *C. ladanifer*. Existen pocas citas sobre la capacidad de acumulación de metales en especies del género *Cytisus* en suelos contaminados (Rodríguez García, 2004; Juskiewicz-Swaczyna & Endler, 2003). Nuestros resultados demuestran que la concentración de Zn en la parte aérea no aumenta con la contaminación del sustrato (con valores medios en todos los casos alrededor de 80 mg kg^{-1} de Zn). Se trata, por tanto, de una especie exclusora de Zn que restringe su acumulación en la parte aérea mediante mecanismos fisiológicos que limitan la translocación desde las raíces. La absorción y acumulación del Zn biodisponible del suelo es eficiente en las raíces y se incrementa con el nivel de contaminación del sustrato ($P<0.05$), alcanzando niveles de concentración y de IA similares ($P<0.05$) a los alcanzados por *S. viminalis* y *C. ladanifer*. En los sustratos FC, *C. scoparius* alcanza concentraciones máximas de Zn en la raíz con un valor medio de 272 mg kg^{-1}. Sin embargo, las concentraciones en la parte aérea en ningún caso supera a las alcanzadas por la raíz y presenta IT en sustratos contaminados en Zn siempre inferiores a la unidad, con valores entre 0.33 y 0.45 (Tabla 3).

Efecto rizosférico sobre las propiedades físico-químicas del suelo

La rizosfera contiene usualmente concentraciones de metales significativamente mayores que el resto del suelo no rizosférico. En adición, el grado de enriquecimiento de la rizosfera (Zn rizosfera/ Zn suelo) suele ser mayor para la fracción soluble e intercambiable (Legrand et al., 2005), de manera que se produce una movilización o bioactivación de los metales (Yang et al., 2005). Esto facilita la captura por parte de las raíces de los metales hidratados o los complejos metal-quelantes por medio de sistemas de transporte como bombas primarias, canales iónicos y transportadores (Yang et al., 2005; Fernández & Maldonado, 2000), permitiendo la bioacumulación del metal en los tejidos vegetales. La diferente influencia de las raíces sobre la movilización o bioactivación metálica podría ser, por tanto, un factor determinante que explique los diferentes patrones de acumulación de Zn entre especies.

Las variaciones en el fraccionamiento de Zn que tiene lugar en la rizosfera de cada una de las especies/poblaciones estudiadas frente al suelo no rizosférico se representan en la tabla 4, y efectivamente se muestra una tendencia al enriquecimiento rizosférico. La fracción oxidable (complejos orgánicos/sulfurosos) y la fracción residual (ligada a estructuras mineralógicas) son las dos fracciones químicas dominantes tanto en el suelo no rizosférico como en la rizosfera, y engloban en torno al 90% del Zn total recuperable independientemente del nivel de contaminación. El incremento de la fracción de Zn soluble e intercambiable (< 7%) en la rizosfera frente al suelo no rizosférico fue únicamente significativo ($P<0.05$) en los casos de *C. scoparius* en FC y de la población “SC” de *C. ladanifer* tanto para NC como para LC y MC. Por otro lado, no existieron diferencias significativas ($P<0.05$) en el porcentaje de la fracción soluble e intercambiable entre las rizosferas de las distintas especies/poblaciones utilizadas en el ensayo.

Tabla 4.- Rangos de concentración (mg kg^{-1}) de las distintas fracciones de Zn en el suelo no rizosférico y en los suelos rizosféricos de cada una de las especies/poblaciones estudiadas en función del nivel de contaminación del sustrato de crecimiento. Entre paréntesis se representa el porcentaje medio respecto a la concentración de Zn total.

	NC	LC	MC	FC
Suelo no rizosférico				
Intercambiable	1.2 – 4 (3.2%)	15 – 19 (5%)	26 – 42 (5.8%)	38 – 60 (3.7%)
ligado a óxidos de Fe y Mn	1.8 – 2.8 (3.9%)	13 – 18 (4.7%)	18 – 40 (5.1%)	36 – 50 (3%)
ligado a materia orgánica y sulfuros	3.7 – 7.7 (9.8%)	97 – 267 (55%)	107 – 550 (53%)	462 – 1350 (62%)
ligado a las estructuras mineralógicas	45 - 60 (83%)	0.4 – 310 (35%)	12 – 444 (36%)	16 – 1143 (32%)
Zn total	55 – 68	210 – 460	420 – 850	670 – 2000
Rizosfera de *S. viminalis*				
Intercambiable	1.6 - 2.8 (3.1%)	16 – 21 (5%)	32 – 40 (4.8%)	53 – 68 (4.1%)
ligado a óxidos de Fe y Mn	2.6 - 3.4 (4.4%)	17 – 21 (5%)	30 – 38 (4.6%)	50 – 58 (3.7%)
ligado a materia orgánica y sulfuros	5.5 – 12 (12%)	150 – 425 (52%)	275 – 375 (43%)	800 – 1000 (56%)
ligado a las estructuras mineralógicas	52 – 59 (81%)	84 – 171 (38%)	134 – 573 (47%)	214 – 1517 (37%)
Zn total	64 – 73	330 - 430	580 - 930	1140 - 2620
Rizosfera de *C. scoparius*				
Intercambiable	1.4 - 2.8 (3.2%)	16 – 29 (5%)	36 – 48 (6.4%)	51 – 74 (5.1%)
ligado a óxidos de Fe y Mn	2.4 - 2.8 (3.7%)	17 – 24 (4.6%)	30 – 42 (5.3%)	32 – 48 (3.5%)
ligado a materia orgánica y sulfuros	4.2 - 6.7 (7.9%)	150 – 300 (44%)	275 – 400 (55%)	750 – 900 (69%)
ligado a las estructuras mineralógicas	52 – 61 (85%)	102 – 197 (47%)	167 – 595 (33%)	60 – 468 (22%)
Zn total	61 – 71	320 - 470	550 - 1000	1050 - 3050
Rizosfera de *C. ladanifer* ("S")				
Intercambiable	1.8 - 2.6 (3%)	17 – 22 (5.5%)	34 – 45 (6.3%)	42 – 89 (3.8)
ligado a óxidos de Fe y Mn	2.6 - 3.4 (4.2%)	16 – 19 (4.9%)	26 – 38 (5.2%)	32 – 44 (2.6%)
ligado a materia orgánica y sulfuros	4.5 - 6.5 (7.2%)	132 – 175 (45%)	175 – 337 (44%)	800 – 950 (58%)
ligado a las estructuras mineralógicas	60 – 64 (86%)	87 – 315 (44%)	93 – 825 (44%)	266 – 991 (35%)
Contenido en Zn total	70 – 76	300 - 480	500 - 1060	1020 – 2070
Rizosfera de *C. ladanifer* ("SC")				
Intercambiable	1.8 - 2.2 (2.9%)	23 – 32 (6.7%)	34 – 44 (6.3%)	52 – 66 (3.2%)
ligado a óxidos de Fe y Mn	2.2 - 3.8 (3.9%)	19 – 21 (5%)	30 – 34 (5.1%)	36 – 48 (2.4%)
ligado a materia orgánica y sulfuros	3.7 – 10 (8.5%)	127 – 275 (51%)	275 – 475 (59%)	250 – 1300 (44%)
ligado a las estructuras mineralógicas	58 – 61 (85%)	62 – 208 (37%)	95 – 321 (29%)	20 – 1972 (51%)
Zn total	68 – 73	360 - 450	570 - 670	1420 - 2310

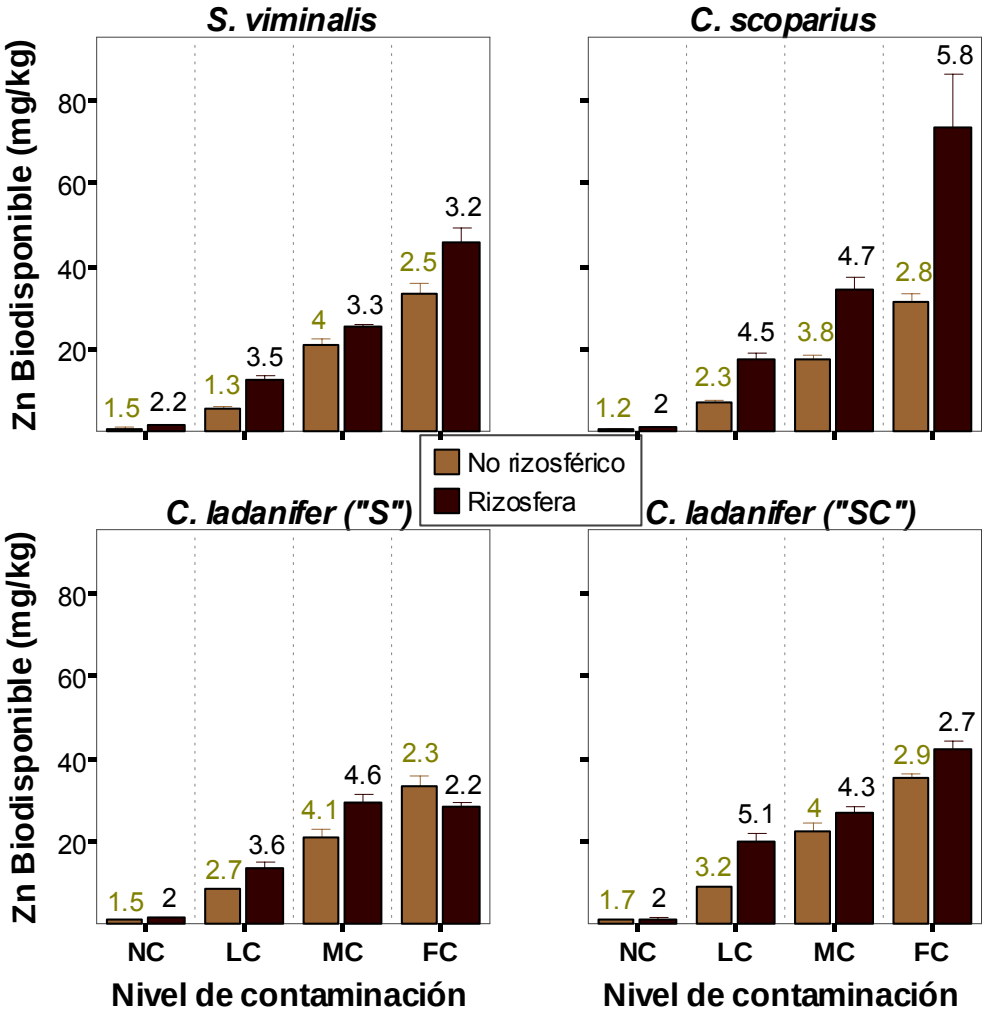

Figura 3.- Concentración de Zn biodisponible (extraído en EDTA+$NH_4CH_3O_2$) en suelos no rizosféricos y suelos rizosféricos para las distintas especies/poblaciones y niveles de contaminación. Sobre las barras se representa en cada caso el porcentaje de la fracción biodisponible en relación al Zn total.

En la figura 3 se representa la fracción de Zn considerada biodisponible (extraída en EDTA+$NH_4CH_3O_2$) en suelos y rizosfera para las distintas especies/poblaciones y niveles de contaminación. *Cytisus scoparius* muestra en todos los casos un incremento significativo ($P<0.05$) de la fracción de Zn biodisponible en su rizosfera. Por su parte, *S. viminalis* y *C. ladanifer* tienden a incrementar igualmente la fracción de Zn biodisponible en la rizosfera, aunque en estos casos el incremento es únicamente significativo ($P<0.05$) en sustratos LC para el caso de *S. viminalis* y la población "SC" de *C. ladanifer*. Contrariamente a la tendencia general y puntualmente, tal y como sucede en *S. viminalis* en los suelos MC y en ambas poblaciones de *C. ladanifer* en suelos FC, se encuentran porcentajes de Zn biodisponible ligeramente inferiores en la rizosfera que en el resto del suelo. A pesar de que las diferencias

no son significativas ($P<0.05$), esta tendencia podría estar inducida por un pico de absorción de Zn que reduce la fracción de Zn biodisponible en la rizosfera en el momento de la recogida, lo que está de acuerdo con los máximos niveles de acumulación de estas plantas (Figura 2). Ciertos factores que controlan el fraccionamiento de metales en la rizosfera son dependientes del tiempo, y esta es una de las razones que explican algunos resultados diferentes de los cambios inducidos por la raíz en el fraccionamiento de metales en la rizosfera (Tao et al., 2005).

Existen trabajos que demuestran que, de una manera general, los cambios provocados sobre la rizosfera difieren entre especies o poblaciones con distinta capacidad de absorción y acumulación de metales. Autores como Greger (2005), por ejemplo, muestran que la liberación de metales de los coloides del suelo hacia las formas biodisponibles difiere entre clones de *Salix* con diferentes propiedades de acumulación de metales. En nuestro caso, sin embargo, en base a los resultados obtenidos, parece que todas las especies/poblaciones estudiadas muestran una influencia similar sobre la fracción biodisponible de Zn ($P<0.05$), tanto en valores absolutos como en porcentajes, a pesar de que *C. scoparius* muestra una tendencia a presentar una mayor proporción de Zn biodisponible en su rizosfera, principalmente en suelos FC (con valores en torno al 6% del Zn total frente a los 2-3% encontrado en *S. viminalis* y *C. ladanifer*).

Aunque existen datos contradictorios, los mecanismos rizosféricos implicados en la solubilización de metales podrían estar relacionados con una acidificación mediante la liberación de H^+ (Crowley et al., 1991; Hammer & Keller, 2002; Knight et al., 1997) y/o una liberación de exudados radiculares y microbióticos con potencial para inducir la solubilidad, así como la absorción de metales, su translocación y su resistencia (Hammer & Keller, 2002; Tao et al., 2005; Krishnamurti & Naidu, 2002). Por otra parte, parece que la exudación natural de agentes quelantes como los ácidos orgánicos podría jugar también un papel importante en especies exclusoras, permitiendo la tolerancia de metales y formando complejos que producen una detoxificación del metal en la rizosfera, como sucede por ejemplo con el Al (Ma et al., 2001; Pellet et al., 1995; Larsen et al., 1998). De manera similar, la exudación microbiana en el suelo, como la liberación de sideróforos, podría estar implicada también en muchos procesos redox y procesos de solubilización/estabilización de metales en la rizosfera (Smith & Read, 1997; Huang et al., 2005; Lynch & Whipps, 1990; Bowen & Rovira, 1991), aunque uno de los mayores problemas que permanecen actualmente es distinguir entre los efectos de la actividad microbiana y los efectos de la actividad radicular de las plantas.

La acidificación de la rizosfera ha sido mostrada en un amplio rango de estudios, desde experimentos con macetas hasta investigaciones de campo (Legrand et al., 2005; Courchesne et al., 2001; Wang et al., 2001). En adición al efecto de acidificación de los exudados radiculares, las raíces inducen cambios en el pH como consecuencia de la respiración radicular

y la excreción o reabsorción de H^+ o HCO^{3-} (Nye, 1986; Marschner & Römheld, 1996), lo que influye en la solubilidad del metal y su desorpción (Lindsay, 1979). En la figura 4 se muestra la acidificación media obtenida en la rizosfera para cada una de las especies/poblaciones estudiadas y niveles de contaminación de Zn en el sustrato. Todas las especies, independientemente del nivel de contaminación, provocan una reducción de pH en la rizosfera frente al resto del suelo en muchas ocasiones significativa ($P<0.05$), que ronda las 0.5 unidades. La capacidad de acidificación de las especies/poblaciones es generalmente similar ($P<0.05$), existiendo únicamente una acidificación significativamente superior ($P<0.05$) en la población "S" de *C. ladanifer* en suelos MC frente a la población "SC" de *C. ladanifer* y a *S. viminalis*. La existencia de una acidificación similar en la rizosfera por parte de las especies estudiadas justifica la inexistencia de diferencias en la fracción biodisponible de Zn.

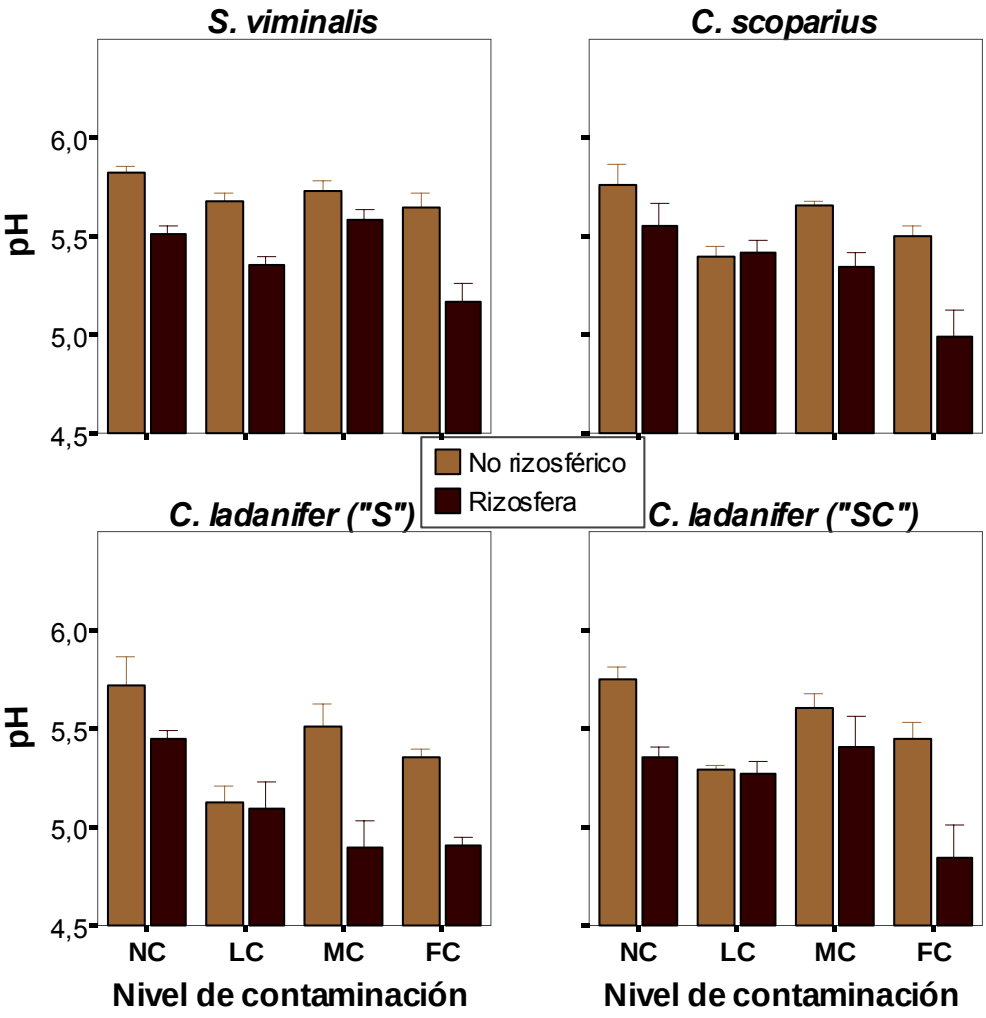

Figura 4.- pH en agua de suelos no rizosféricos y suelos rizosféricos en cada una de las especies/poblaciones estudiadas y niveles de contaminación de Zn en el sustrato.

Por su parte, el incremento en la rizosfera de los niveles de carbono orgánico disuelto (DOC) con motivo de la proximidad de las raíces y la exudación de compuestos orgánicos, así como de los productos de descomposición de las raíces y sus hongos y microorganismos asociados (Vaughan et al., 1993; Gobran et al., 1998; Arocena et al., 1999), ha sido también reconocido en la literatura (Bowen & Robira, 1991; Marschner & Romheld, 1996; Hinsinger,1998; Legrand et al., 2005). La cantidad y tipo de compuestos exudados por las raíces son específicos de cada especie y pueden variar además dentro de la misma especie en diferentes suelos y niveles de contaminación (Cieslinski et al., 1998). Esto podría ser una causa de la existencia de diferencias en la movilización de metales y en los patrones de absorción y acumulación entre especies de plantas y ecotipos (Mench & Martin, 1991).

En la tabla 5 se presenta el rango de variación y la media del contenido en DOC en la rizosfera y en el suelo no rizosférico para las diferentes especies/poblaciones estudiadas y niveles de contaminación, así como los porcentajes de C_{total} y N_{total} con los que está estrechamente correlacionados (coeficientes de correlación de Pearson de 0.81 y 0.79 ($P<0.01$), respectivamente). Como era de esperar, existe en todos los casos un incremento significativo ($P<0.05$) de más de 8 veces de DOC en la rizosfera. La rizosfera de *S. viminalis* presenta un DOC significativamente ($P<0.05$) superior en suelos LC (534 mg kg^{-1}) que en el resto de niveles de contaminación (en torno a 300 mg kg^{-1}). Las dos poblaciones de *C. ladanifer* utilizadas en el ensayo no presentan diferencias significativas ($P<0.05$) en cuanto a la exudación de compuestos orgánicos hacia la rizosfera. La población "SC", no obstante, tiende a presentar sistemáticamente los valores de DOC más elevados, debido probablemente a su mayor crecimiento y producción de biomasa radicular. *Cistus ladanifer* presenta una reducción significativa ($P<0.05$) en la exudación de compuestos orgánicos en suelos contaminados, aunque no se encuentran diferencias significativas ($P<0.05$) en función del nivel de contaminación (con valores medios de DOC entre 200-300 mg kg^{-1}). En el caso de *C. scoparius* no existen diferencias significativas ($P<0.05$) en cuanto a la concentración de DOC en la rizosfera de suelos no contaminados (NC) y contaminados, independientemente de su nivel de contaminación (LC, MC, FC), manteniendo siempre valores en torno a 300 mg kg^{-1}. Todas las especies/poblaciones estudiadas muestran una exudación de compuestos orgánicos similar ($P<0.05$) cuando crecen sobre suelos altamente tóxicos con un nivel de contaminación de moderado a fuerte (MC/FC). Sobre sustratos NC o LC, sin embargo, las diferencias entre especies/poblaciones se acentúan, siendo en algunos casos significativas ($P<0.05$). En suelos NC, la población "SC" de *C. ladanifer* muestra un valor de DOC significativamente ($P<0.05$) superior a *C. scoparius*. En suelos LC, *S. viminalis* presentó un valor medio de DOC significativamente ($P<0.05$) mayor al alcanzado por *C. scoparius* y por la población "S" de *C. ladanifer*.

Tabla 5.- Rango de variación y media (entre paréntesis) del contenido en C orgánico disuelto (DOC) y porcentajes de C_{total} y N_{total} en el suelo no rizosférico y en la rizosfera de las diferentes especies/poblaciones estudiadas en función del nivel de contaminación del sustrato.

		NC	LC	MC	FC
Suelo no rizosférico					
	DOC	11.7 – 53 (29.2)	8.2 – 33.7 (25.1)	13.8 – 41.5 (30.7)	8.03 – 55.7 (31.1)
	$\%C_{total}$	1.07 – 1.39 (1.19)	0.94 – 1.31 (1.13)	1.02 – 1.42 (1.17)	1.16 – 1.53 (1.34)
	$\%N_{total}$	0.07 – 0.10 (0.08)	0.06 – 0.10 (0.08)	0.06 – 0.10 (0.08)	0.06 – 0.11 (0.09)
Rizosfera de *S. viminalis*					
	DOC	249 – 527 (373)	438 – 659 (534)	310 – 498 (398)	204 – 312 (254)
	$\%C_{total}$	2.25 - 2.59 (2.46)	2.01 - 2.32 (2.16)	1.92 - 2.64 (2.22)	2.06 - 2.64 (2.31)
	$\%N_{total}$	0.15 - 0.18 (0.16)	0.14 - 0.17 (0.16)	0.14 - 0.17 (0.15)	0.12 - 0.17 (0.15)
Rizosfera de *C. scoparius*					
	DOC	88.5 – 404 (291)	128 – 486 (315)	104 – 489 (298)	142 – 538 (236)
	$\%C_{total}$	1.92 - 2.92 (2.49)	1.94 - 2.62 (2.23)	2.30 - 2.62 (2.47)	2.23 - 3.56 (2.79)
	$\%N_{total}$	0.13 - 0.22 (0.19)	0.14 - 0.21 (0.17)	0.15 - 0.18 (0.16)	0.15 - 0.23 (0.18)
Rizosfera de *C. ladanifer* ("S")					
	DOC	229 – 588 (408)	115 – 377 (241)	173 – 553 (292)	134 – 289 (230)
	$\%C_{total}$	2.29 - 3.25 (2.72)	2.01 - 3.24 (2.47)	1.75 - 3.24 (2.40)	2.11 - 2.93 (2.47)
	$\%N_{total}$	0.16 - 0.21 (0.18)	0.15 - 0.24 (0.18)	0.12 - 0.19 (0.15)	0.15 - 0.18 (0.17)
Rizosfera de *C. ladanifer* ("SC")					
	DOC	386 – 607 (523)	142 – 409 (322)	161 – 385 (292)	229 – 442 (334)
	$\%C_{total}$	2.38 - 2.91 (2.65)	2.17 - 2.80 (2.61)	1.91 - 3.27 (2.44)	2.22 - 2.93 (2.53)
	$\%N_{total}$	0.16 - 0.18 (0.17)	0.16 - 0.20 (0.19)	0.12 - 0.19 (0.16)	0.15 - 0.17 (0.16)

Tabla 6.- Matrices de correlación de Pearson entre distintos parámetros de la rizosfera y la bioacumulación de Zn en los tejidos vegetales de las especies/poblaciones estudiadas.

		Variación pH	$DOC_{rizosfera}$	Variación % Zn_{EDTA}	$[Zn]_{raíz}$
S. viminalis	$DOC_{rizosfera}$	0.312			
	Variación % Zn_{EDTA}	-0.247	0.268		
	$[Zn]_{raíz}$	-0.314	-0.514*	-0.261	
	$[Zn]_{parteaérea}$	-0.077	-0.206	-0.229	0.842**
C. scoparius	$DOC_{rizosfera}$	0.118			
	Variación % Zn_{EDTA}	0.085	0.189		
	$[Zn]_{raíz}$	-0.412*	-0.409*	0.233	
	$[Zn]_{parteaérea}$	-0.317	-0.212	0.424*	0.579**
***C. ladanifer* ("S")**	$DOC_{rizosfera}$	-0.157			
	Variación % Zn_{EDTA}	0.355	0.047		
	$[Zn]_{raíz}$	-0.402	-0.447*	-0.130	
	$[Zn]_{parteaérea}$	-0.207	-0.413	0.066	0.890**
***C. ladanifer* ("SC")**	$DOC_{rizosfera}$	-0.299			
	Variación % Zn_{EDTA}	0.518*	-0.355		
	$[Zn]_{raíz}$	-0.130	-0.582*	0.103	
	$[Zn]_{parteaérea}$	0.082	-0.757**	0.229	0.896**

(*) Correlación significativa a un nivel de p<0.05
(**) Correlación significativa a un nivel de p<0.01

En base a las escasas diferencias de acidificación y de valores de DOC en la rizosfera de las especies/poblaciones estudiadas, así como a las pocas variaciones existentes en cuando a la fracción biodisponible de Zn, no parece que los diferentes patrones de acumulación de las plantas puedan ser explicados directamente por estos factores. En la tabla 6 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson entre la acidificación producida en la rizosfera, la exudación de compuestos orgánicos ($DOC_{rizosfera}$), la variación en el porcentaje de Zn biodisponible y la acumulación de Zn en las raíces y en la parte aérea de las plantas. La falta sistemática de una correlación significativa entre la acidificación y la exudación de compuestos orgánicos ($DOC_{rizosfera}$) indica que en la variación del pH no se ven involucrados los compuestos exudados, en contra de lo obtenido por Tao et al. (2005). Así mismo, no se encuentra generalmente una correlación significativa ($P<0.05$) entre la acidificación producida en la rizosfera y la variación del porcentaje de Zn biodisponible, salvo en la población "S" de *C.*

ladanifer. Tao et al. (2005) indicaron, basado en sus resultados, que cuando el pH cambia en menos de media unidad no parece inducir cambios significativos en el fraccionamiento de metales como Cu, Cd y Pb. La acidificación encontrada en la rizosfera de *S. viminalis*, *C. scoparius* y *C. ladanifer* no supera generalmente la media unidad, por lo que parece que la magnitud del cambio puede ser demasiado pequeña para que se produzcan cambios significativos en el fraccionamiento de Zn debido a la acidificación. En cualquier caso, el papel que puede jugar los cambios de pH en la solubilización de determinados metales en la rizosfera depende además de la especie de planta, del pH inicial y de la capacidad de amortiguación del suelo (Youssef & Chino, 1991; Knight et al., 1997).

De acuerdo con nuestros resultados, Greger (2005) no encontró diferencias en el pH de la rizosfera en diferentes clones de *Salix* que puedan explicar las diferencias de acumulación. Este autor sugiere la existencia de otros mecanismos de solubilización de Zn diferentes a la acidificación que incrementan la fracción biodisponible en la rizosfera de las plantas. En este sentido, basado en los resultados de absorción de Zn y Cd por *T. caerulescens* en suelos contaminados, Knight et al. (1997) observaron la movilización de metales incluso después de un incremento significativo en el pH de la rizosfera, que fue facilitado por la disolución de sustancias húmicas en la matriz del suelo. Otros autores como McGrath et al. (1997) y Tao et al. (2005) llegaron también a conclusiones similares y corroboran que los exudados tienen más influencia que el pH en la solubilización de metales, encontrando por ejemplo un incremento de la fracción intercambiable de metales como el Cu y Cd con el incremento del contenido en DOC (Tao et al., 2005). Nuestros resultados, sin embargo, tampoco muestran una correlación significativa ($P<0.05$) entre la exudación de compuestos orgánicos hacia la rizosfera ($DOC_{rizosfera}$) y la variación de la fracción biodisponible de Zn para ninguna de las especies/poblaciones estudiadas (Tabla 6). Este hecho debe ser explicado por la implicación de factores como puede ser la propia afinidad de los exudados liberados por las especies/poblaciones consideradas hacia un determinado metal como el Zn. Tao et al. (2005) ya observaron diferencias en cuanto a la capacidad de solubilización y complejación de metales de los exudados entre especies, y se ha indicado, por ejemplo, que las monocotiledóneas podrían liberar exudados con una mayor eficiencia en la complejación de metales (Marschner & Römheld, 1996). En este sentido, en adición a las posibles diferencias en la cantidad de exudados, la calidad de los exudados de las tres especies consideradas puede ser crucial en el entendimiento de la variación en la biodisponibilidad de Zn producida en la rizosfera.

La relación molar entre Zn_{EDTA} / DOC permite evaluar la cantidad de Zn biodisponible normalizado respecto a la concentración de DOC y detectar las posibles diferencias en la capacidad de complejación de los exudados liberados por las distintas especies/poblaciones. Esta relación, a diferencia de lo que ocurre en trabajos como el de Legrand et al. (2005), resulta significativamente ($P<0.05$) menor (en torno a 10 veces) en la rizosfera que en el suelo

no rizosférico, independientemente de la especie y el nivel de contaminación considerado. Esto supone que la mayor parte del material orgánico exudado hacia la rizosfera por las especies estudiadas no se ve involucrado en la complejación y en el incremento de la fracción biodisponible de Zn, lo que explicaría la inexistencia de una correlación significativa entre $DOC_{rizosfera}$ y la variación en la fracción biodisponible (Tabla 6). Así mismo, las relaciones Zn_{EDTA}/DOC en la rizosfera son generalmente similares en todas las especies/poblaciones consideradas en el ensayo, aunque *C. scoparius* tiende a presentar los valores más elevados independientemente del nivel de contaminación. En este sentido, se encuentran incluso diferencias significativas ($P<0.05$) con la población "S" de *C. ladanifer* en suelos FC. El conjunto de resultados sugiere una escasa capacidad de complejación de Zn de la materia orgánica exudada por todas las especies/poblaciones estudiadas, aunque tiende a ser superior en *C. scoparius* (especie exclusora de Zn). Greger et al. (2005), en un estudio con diferentes clones de *Salix,* propone que es posible que el tamaño de los complejos prevenga la absorción de Zn hacia los tejidos vegetales, y al menos decrece la translocación entre raíces y la parte aérea. Este hecho explicaría la correlación negativa significativa ($P<0.05$) encontrada entre $DOC_{rizosfera}$ y $[Zn]_{raíz}$ (Tabla 6). Una de las razones para la baja absorción en los exclusores de Zn como *C. scoparius* debe ser dada por los complejos con ácidos orgánicos y/o péptidos, que previenen su absorción de una manera similar a las plantas tolerantes de Al, donde los ácidos orgánicos previenen la absorción de Al (Ma et al., 2001; Pellet et al., 1995; Larsen et al., 1998).

La correlación encontrada entre el incremento de la fracción biodisponible en la rizosfera y los patrones de absorción y bioacumulación de Zn en los tejidos vegetales de las especies estudiadas tampoco fue usualmente significativa ($P<0.05$) (con excepción de cierta correlación existente con $[Zn]_{parteaérea}$ en *C. scoparius*) (Tabla 6). Este hecho contradice el pensamiento clásico de que existe una relación positiva entre el contenido de metales en la solución del suelo y su absorción y acumulación por las plantas (Denaix et al., 2002), de manera que la mayor parte de la fracción biodisponible de Zn existente en la rizosfera de las especies estudiadas debe permanecer ligada a complejos orgánicos no asimilables, tal y como se comentó con anterioridad. Por este motivo, en las diferencias de bioacumulación de estas especies deben estar implicados mecanismos más relacionados con las propiedades de los compuestos exudados en cada caso así como con la alteración de los sistemas de membranas de transporte, que reducen la entrada de metales y aumentan la actividad de ciertas bombas metabólicas (Lasat, 2002, McGrath et al., 2001; Mejáre & Bülow, 2001; Salt et al., 1998). En este sentido, se habla también de que, en la raíz, la endodermis forma una barrera para la difusión de iones libres disueltos y moléculas hacia el tejido vascular (Mauseth, 1988; Greger, 2005). Sin embargo, esta barrera está ausente en el ápice de la raíz, y cuanto más nos alejamos del ápice, mayor es la formación de esta barrera. Lux et al. (2004), estudiando clones de *Salix*, afirmó que las diferencias en la distancia entre la barrera y el ápice de la raíz podrían explicar las variaciones en la acumulación y translocación de metales.

Implicaciones en la fitocorrección de suelos contaminados

Dado que *S. viminalis* y *C. ladanifer* presentan una estrategia de acumulación de Zn en sus partes aéreas, son especies potencialmente útiles en la fitoextracción de este metal. La tasa de bioacumulación de Zn (Tabla 3) muestra que tanto *S. viminalis* como C*. ladanifer* presentan una mayor bioacumulación de Zn relativa al Zn disponible en el suelo cuanto menor es el nivel de contaminación, lo que implica una mayor eficiencia de extracción a niveles de contaminación de Zn bajos. En el caso de *S. viminalis* se han encontrado resultados similares en diferentes trabajos (Granel et al., 2002; Meers et al., 2003; Roselli et al., 2003; Vandecasteele et al., 2004). La capacidad de fitoextracción no sólo depende de la bioacumulación alcanzada en las partes aéreas de la planta, sino que la biomasa producida, que se ve reducida por la toxicidad del exceso de metal en el sustrato de crecimiento, se presenta como un factor determinante (Schwartz et al., 2001). De esta manera, la fitoextracción resulta de una combinación de la tolerancia mostrada por la planta expresada como producción de biomasa y la acumulación de metales. Esta relación no varía linealmente con la concentración total de metal en el suelo, sino que se sigue una curva de respuesta a la dosis suministrada dependiendo del metal disponible. Se puede encontrar, por tanto, una concentración óptima de Zn biodisponible en los suelos que permita la máxima producción de biomasa en conjunto con la mayor acumulación de Zn en la parte aérea (Schwartz et al., 2001).

La fitoextracción de Zn llevada a cabo por las especies consideradas en este estudio ha sido calculada en función de la bioacumulación y la producción de biomasa tras 18 semanas de crecimiento en sustratos con diferentes niveles de contaminación. En la tabla 7 se presenta una estimación de la eficiencia de fitoextracción por hectárea y año, considerando el área de la maceta de crecimiento ($\pi\ r^2$) y una supuesta tasa de producción de biomasa constante a lo largo del año (condiciones de invernadero). A modo comparativo se muestran igualmente algunos valores de eficiencias de fitoextracción de Zn conseguidas por plantas hiperacumuladoras y no hiperacumuladoras en distintos trabajos (Baker et al., 1994; Chaney et al., 2005).

Dentro del grupo de especies estudiadas en el ensayo, *S. viminalis* posee la mayor eficiencia de fitoextracción independientemente del nivel de contaminación del sustrato de crecimiento, al presentar conjuntamente la mayor tasa de bioacumulación de Zn en sus partes aéreas y la mayor producción de biomasa ($P<0.05$) (Tabla 7). *Cistus ladanifer* presenta diferencias significativas ($P<0.05$) en cuanto a la capacidad de fitoextracción de Zn en función de la población. Tanto la población metalófita procedente de áreas serpentiníticas (“S”) como la población procedente de sustrato esquistoso (“SC”) presentan una acumulación similar de Zn en su parte aérea. Sin embargo, la mayor producción de biomasa y tolerancia de la población “SC” supone una capacidad de extracción de Zn tres veces mayor en sustratos de contaminación ligera a moderada (LC/MC) (Tabla 7). Estos resultados demuestran que la

elección de la

Tabla 7.- Estimación de la eficiencia de fitoextracción (kg Zn ha^{-1} año^{-1}) de las especies estudiadas en función del nivel de contaminación del sustrato (condiciones de invernadero). A modo comparativo se muestran eficiencias de fitoextracción de Zn en plantas hiperacumuladoras y no hiperacumuladoras obtenidas de diferentes referencias (*Baker et al., 1994 / ** Chaney et al., 2005 / *** Schwart et al., 2001 (en este último caso no son cultivos, sino colonización natural por lo que no es un valor anual)).

	NC (<60 mg kg^{-1})	**LC** (aprox. 300 mg kg^{-1})	**MC** (aprox. 700 mg kg^{-1})	**FC** (aprox. 1400 mg kg^{-1})
Especies del ensayo				
Salix viminalis	0.5	1.6	2.8	1.6
Cistus ladanifer (población"SC")	0.3	0.6	1.1	0.2
Cistus ladanifer (población "S")	0.3	0.2	0.3	0.1
Cytisus scoparius	0.2	0.2	0.3	0.1
Especies Hiperacumuladoras				
Thlaspi caerulescens		30.1*		125 **
Thlaspi caerulescens (cultivar mejorado)				250 **
Cardaminopsis halleri		10.3 *		
Alyssum tenium		4.3 *		
Alyssum lesbiacum		3.9 *		
Alyssum murale		3.6 *		
Thlaspi ochroleucum		1.5 *		
Arabidopsis halleri				9 ***
Armeria maritima				1 ***
Arrhenatherum elatius				1.5 ***
Especies no Hiperacumuladoras				
Cochlearia pyrenaica		0.6 *		
Brassica napus		0.5 *		
Raphanus sativus		0.2 *		
Zea mays				5.0 **

población más adecuada parece crucial en los procesos de fitoextracción. *Cytisus scoparius* presenta, al igual que la población "S" de *C. ladanifer*, una escasa capacidad de fitoextracción de Zn. A pesar de poseer en este caso una elevada tolerancia a la contaminación y una elevada producción de biomasa, la restricción de la acumulación de Zn en su parte aérea impide en este caso una extracción efectiva.

Tanto *S. viminalis* como *C. ladanifer* (población "SC") muestran una capacidad máxima de fitoextracción a un nivel de contaminación moderado (MC), con un valor medio de extracción de Zn estimado de 2.8 y 1.1 kg ha^{-1} año^{-1}, respectivamente (Tabla 7). En los sustratos fuertemente contaminados (FC), la capacidad de extracción estimada de Zn se vio reducida hasta un valor medio aproximado de 1.6 y 0.2 kg ha^{-1} año^{-1}, respectivamente (Tabla 7). La aparición de síntomas de toxicidad que tienden a reducir la biomasa producida y provocan un descenso de

la concentración de Zn alcanzada en la parte aérea explica este hecho. En este sentido, *C. ladanifer* (población "SC") muestra una mayor sensibilidad a los efectos tóxicos del Zn, ya que la fitoextracción muestra una reducción en torno a 6 veces en los suelos de contaminación elevada frente a una reducción de tan sólo 1.8 veces aproximadamente en el caso de *S. viminalis*. Este comportamiento se ha detectado en diferentes especies adaptadas a elevadas concentraciones de Zn en el suelo (Schwart, 2001). La mayoría de las plantas sufren toxicidad cuando el contenido en hojas contiene sobre 400-500 mg kg^{-1} de Zn, y para no sufrir una mayor repercusión en la producción, las plantas dejan de acumular más Zn (Chaney et al., 2005). *Cistus ladanifer* muestra este comportamiento, y con concentraciones en hoja alrededor de 500 mg kg^{-1} de Zn deja de acumular este metal, independientemente de la concentración de Zn en el sustrato (Figura 2). *Salix viminalis* muestra una mayor tolerancia a la acumulación de Zn que *C. ladanifer* y la mayor parte de las plantas, y consigue una acumulación de Zn de hasta 1423 mg kg^{-1} en hojas sin una reducción drástica de la biomasa producida. En ensayos de campo llevados a cabo para valorar la eficiencia de fitoextracción de diferentes especies en suelos contaminados en metales se habla de resultados prometedores que varían entre 2 y 41 kg ha^{-1} de Zn extraído (McGrath et al., 1993; Baker et al., 1994; Schwartz & Morel, 1998; Chaney et al., 2000). Debido a la elevada producción de biomasa de *S. viminalis*, a un nivel de contaminación de ligero a moderado se obtienen eficiencias de fitoextracción de Zn comparables a las de algunas especies hiperacumuladoras como *T. ochroleucum,* e incluso a algunas especies de *Alyssum,* de escasa producción de biomasa al tratarse de plantas de pequeño tamaño (Tabla 7). La población "SC" de *C. ladanifer* muestra valores de fitoextracción inferiores a las de cualquier hiperacumuladora, al nivel de especies no hiperacumuladoras como *C. pyrenaica* y *B. napus* (Tabla 7). No obstante, la capacidad de crecimiento de *C. ladanifer* en suelos pobres en nutrientes y el reciente descubrimiento de bacterias en su rizosfera capaces de inducir el crecimiento (PGPR) y de movilizar los nutrientes en suelos degradados (Ramos Solano et al., 2006), la convierten en una especie interesante desde el punto de vista de la revegetación y fitoestabilización de suelos con contaminación de ligera a moderada.

Actualmente, se reconoce que la aplicación de la fitoextracción en términos de tiempo requerido para conseguir objetivos de descontaminación basado en concentraciones totales de metales en los suelos supone varias décadas (Zhao et al., 2003; Adriano et al., 2004). Considerando como referencia la concentración total de Zn de 150 mg kg^{-1} en suelos con pH<7 propuesto por el R.D. 1310/1990 de la legislación española (B.O.E nº 262, 1990), *S. viminalis* necesitaría, según las estimaciones realizadas, alrededor de 43, 70 y 278 años para la descontaminación de un suelo con una contaminación superficial de Zn ligera (aprox. 300 mg kg^{-1} Zn), moderada (aprox. 700 mg kg^{-1} Zn) y fuerte (aprox. 1400 mg kg^{-1} Zn), respectivamente. La población "SC" de *C. ladanifer* necesitaría aproximadamente 130, 164 y 2170 años, respectivamente, mientras que la población "S", 385, 488 y 3613 años, respectivamente. El tiempo de limpieza, sin embargo, se podría acortar sustancialmente considerando únicamente la extracción de las fuentes de metales más lábiles y biodisponibles que suponen un mayor

riesgo ambiental, lo que se conoce como "bioavailable contaminant stripping" (BCS) (Hamon & McLaughlin; 1999). Antes de que las técnicas de BCS puedan considerarse, no obstante, se deben elucidar completamente los procesos rizosféricos implicados en la reposición de metales desde las fracciones menos lábiles y los efectos de los exudados radiculares mediante trabajos experimentales y de ejecución de modelos (Schnepf et al., 2002; Sommer et al., 2002; Adriano et al, 2004). Así mismo, se debe continuar avanzando sobre el conocimiento de la cinética de disolución de las fases que contienen los metales en el suelo para predecir el potencial de labilidad del metal después del proceso de fitoextracción o si la reducción de la fracción biodisponible es definitiva (Wenzel et al., 2002; Keller et al., 2004).

En cuanto a *C. scoparius,* contrariamente a *S. viminalis* y *C. ladanifer*, muestra una estrategia de exclusión del Zn de sus partes aéreas y presenta tasas de bioacumulación bajas independientemente del nivel de contaminación del sustrato, lo que implica que su capacidad de fitoextracción sea en todos los casos mínima (< 0,3 kg Zn ha^{-1} $año^{-1}$). A pesar de ello, dada su elevada tolerancia al Zn y producción de biomasa, es una especie con un elevado interés desde el punto de vista de la fitocorrección de suelos contaminados en Zn. En base a los resultados obtenidos, su aplicación es ampliamente prometedora en procesos de fitoestabilización y fitorestauración, basándose en la inmovilización o estabilización del contaminante en el suelo y reduciendo altamente su peligrosidad (Raskin & Ensley, 2000; Barceló & Poschenrieder, 2003). La revegetación de suelos contaminados en Zn con *C. scoparius* puede establecer una cubierta vegetal estable y permanente que estabiliza físicamente el suelo superficial y evita su erosión (Vandenhove, 2000; Barceló & Poschenrieder, 2003), reduciendo la generación de polvo y la movilidad del Zn. En adición, la tasa de infiltración del agua de lluvia se puede ver reducida por el incremento de la evapotranspiración inducida por las plantas, reduciendo la lixiviación potencial y la generación de posibles drenajes ácidos (Van de vivere, 2000; Stanley 2002; Pulford & Watson, 2003). Dado que *C. scoparius* no moviliza el Zn, limitando su translocación hacia la parte aérea, evita la exposición del contaminante y reduce el riesgo de su introducción en la cadena trófica. Su utilización en labores de fitoestabilización de suelos contaminados en la Península Ibérica podría resultar además especialmente interesante al tratarse de un arbusto bien adaptado a las condiciones locales que es capaz de fijar N en los suelos. En este sentido, existen distintos autores que indican que la inclusión de especies tolerantes a metales, fijadoras de N, (como las *Fabaceae*) podrían facilitar la estabilización de la vegetación e inducir el desarrollo de ecosistemas, así como promover el mantenimiento de la cobertura vegetal en suelos contaminados pobres en nutrientes tales como los suelos mineros (Harris et al., 1996; Wong, 2003; Whiting et al., 2004). *Cytisus scoparius*, por tanto, podría desempeñar una función similar en suelos contaminados en Zn que otras especies Peninsulares fijadoras de N como *Anthyllis vulneraria* (Frérot et al., 2006), herbácea distribuida a lo largo de la costa mediterránea, o *Lupinus albus* (Pastor et al., 2003; Bernal 2007), sobre las que se ha demostrado su potencial en procesos de fitocorrección.

4. CONCLUSIONES

La producción de biomasa en todas las especies/poblaciones estudiadas se vio reducida significativamente ($P<0.05$) en los suelos contaminados en Zn debido a su toxicidad, aunque *C. scoparius* presentó una mayor tolerancia y sólo vio afectada significativamente su producción a niveles elevados de contaminación. Tanto *S. viminalis* como principalmente *C. ladanifer*, presentaron una menor tolerancia que *C. scoparius* independientemente del nivel de contaminación.

Salvo en casos de elevada contaminación y fuerte toxicidad, la biomasa aérea producida por la población "SC" de *C. ladanifer* fue en todos los casos en torno a 2-3 veces mayor que la producida por la población "S", lo que muestra la existencia de diferencias genéticas naturales en cuanto a la producción de biomasa entre ambas poblaciones. En adición, la población "SC" tiende a mostrar una mayor tolerancia al Zn que la población "S" en sustratos con contaminación de ligera a moderada, a pesar de tratarse esta última de una población metalófita adaptada a altos niveles de metales como Ni, Cr y Co. Esto parece indicar la implicación de mecanismos de tolerancia específicos de cada metal. El índice de tolerancia de la población "SC" muestra valores cercanos a los obtenidos para *S. viminalis* a niveles de contaminación de ligeros a moderados.

Cistus ladanifer, *S. viminalis* y *C. scoparius* muestran patrones de acumulación de Zn significativamente diferentes ($P<0.05$) en función del nivel de contaminación de Zn del sustrato de crecimiento. No hay diferencias, sin embargo, entre las dos poblaciones de *C. ladanifer* empleadas en el ensayo. *Salix viminalis* bioacumula Zn en su parte aérea y muestra unas concentraciones entre 1.5 y 2 veces mayores que las alcanzadas por *C. ladanifer* a partir de un nivel de contaminación moderado. No obstante, *C. ladanifer* es perfectamente comparable ($P<0.05$) a *S. viminalis* en cuanto a su capacidad de acumular Zn a niveles de contaminación ligera. Por su parte, *C. scoparius* es capaz de mantener una concentración similar ($P<0.05$) de Zn independientemente del nivel de contaminación del sustrato de crecimiento mediante la limitación de la translocación, mostrándose como una especie exclusora.

En todas las especies estudiadas, independientemente del nivel de contaminación, se detecta una acidificación y un incremento significativo ($P<0.05$) de más de 8 veces de DOC en la rizosfera debido a la respiración radicular y a la exudación de H^+ y compuestos orgánicos por parte de las raíces de las plantas y microorganismos asociados. No se encontraron, en general, diferencias significativas ($P<0.05$) en los parámetros rizosféricos y en el incremento de la fracción de Zn biodisponible entre especies/poblaciones, por lo que el paso del Zn en la rizosfera a formas biodisponibles mediante la acidificación y la complejación de metales parece un requisito indispensable pero no suficiente para explicar la acumulación de Zn en las partes aéreas de las plantas. Factores más relacionados con las propiedades de los compuestos exudados en cada caso o con la alteración de los sistemas de transporte de membranas y

bombas metabólicas deben resultar, por tanto, determinantes en la diferente capacidad de bioacumulación de Zn de las especies. En este sentido, el poder de complejación de Zn de la materia orgánica exudada por todas las especies/poblaciones estudiadas fue de una escasa magnitud y relativamente similar, aunque tendió a ser superior en *C. scoparius* a pesar de tratarse de la única especie exclusora estudiada. Esto se traduce en que la rizosfera de *C. scoparius* tiende a mostrar una mayor proporción de Zn biodisponible, principalmente en suelos con elevada contaminación, pero la baja translocación de Zn podría ser dada por la formación de complejos de gran tamaño con ácidos orgánicos y/o péptidos.

Nuestros resultados indican que las especies estudiadas podrían ser potencialmente utilizables en procesos de fitocorrección de suelos contaminados en Zn bajo determinadas circunstancias:

Salix viminalis y C*. ladanifer* presentaron una mayor eficiencia de fitoextracción a niveles de contaminación bajos, debido a la existencia de una mayor bioacumulación de Zn relativa al Zn disponible en el suelo y a una tendencia a presentar mayor producción de biomasa cuanto menor es el nivel de contaminación. Las dos poblaciones de *C. ladanifer* estudiadas mostraron diferencias significativas en cuanto a la capacidad de fitoextracción debido a la mayor producción de biomasa y tolerancia de la población "SC", que supone una capacidad de extracción de Zn 3 veces mayor en sustratos de contaminación de ligera a moderada. La elección de la población más adecuada resulta, por tanto, de gran importancia en el empleo de *C. ladanifer* en procesos de fitoextracción. Tanto *S. viminalis* como *C. ladanifer* (población "SC") mostraron una capacidad máxima de extracción de Zn a un nivel de contaminación moderado, en el caso de *S. viminalis* comparable a la de algunas especies hiperacumuladoras de pequeño tamaño como *T. ochroleucum* e incluso a algunas especies de *Alyssum,* mientras que en el caso de la población "SC" de *C. ladanifer* los resultados fueron comparables a los de especies no hiperacumuladoras como *C. pyrenaica* y *B. napus.*

Cytisus scoparius presenta un interés especial desde el punto de vista de la fitoestabilización de suelos contaminados en Zn, tratándose de un arbusto exclusor con gran tolerancia al Zn, bien adaptado a las condiciones locales de la Península Ibérica y que es capaz de fijar N en los suelos. La fijación de N podría facilitar la estabilización de la vegetación e inducir el desarrollo de ecosistemas, así como promover el mantenimiento de la cobertura vegetal en suelos contaminados pobres en nutrientes tales como los suelos mineros.

5. REFERENCIAS

Adriano, D.C., 2001. "Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals". 2nd Edition. Springer-Verlag New York. Berlin Heidelberg.

Adriano, D.C., Wenzel, W.W., Vangronsveld, J., Bolan, N.S., 2004. "Role of assisted natural remediation in environmental cleanup". Geoderma, 122: 121–142.

Alados, C.L., Navarro, T., Cabezudo, B., 1999. "Tolerance assessment of *Cistus ladanifer* to serpentine soils by developmental stability analysis". Plant Ecology, 143: 51–66.

Alloway, B.J., 1995. "Heavy metals in soils". Chapman & Hall, London.

Alvarenga, P.M. Araújo, M.F., Silva J.A.L., 2003. "Elemental uptake and root-leaves transfer in *Cistus ladanifer* L. growing in a contaminated pyrite mining area (Aljustrel-Portugal)". Water, Air, and Soil Pollution 152: 81–96.

Angle, J.S. & Linacre, N.A., 2005. "Metal Phytoextraction – A survey of potential risks". International Journal of Phytoremediation, 7: 241–254.

Archambault, D.J. & Winterhalder, K., 1995. "Metal tolerance in *Agrostis scabra* from the Sudbruy, Ontario, area". Canadian Journal of Botany, 73: 766–775.

Arocena, J.M., Glowa, K.R., Massicotte, H.B., Lavkulich, L., 1999. "Chemical and mineral composition of ectomycorrhizosphere soils of subalpine fir *(Abies lasiocarpa* (Hook.) Nutt.) in the Ae horizon of a Luvisol". Canadian Journal of Soil Science, 79: 25-35.

Assadian, N. & Fenn, L.B., 2001. "Rhizosphere chemical changes enhance heavy metal absorption by plants growing in calcareous soils". En: Gobran, G.R., Wenzel, W.W., Lombi, E., (eds), "Trace elements in the rhizosphere", pp. 43-60. CRC Press, Boca Raton, FL.

Badri, M. & Springuel, I., 1994. "Biogeochemical prospecting in the south-eastern desert of Egypt". Journal of Arid Environments, 28: 257– 64.

Baker, A.J.M., 1981. "Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to trace metals". Journal of Plant Nutrition, 3: 643–54.

Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Sidoli, C.M.D., Reeves, R.D., 1994. "The possibility of in situ heavy metal decontamination of polluted soils using crops of metalaccumulating plants". Resources, Conservation and Recycling, 11: 41– 49.

Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, R.D, Smith, J.A.C., 2000. "Metal hyperaccumulator plants: A review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils". En: Terry, N., Bañuelos, G., Vangronsveld, J., (eds), "Phytoremediation of contaminated soil and water", pp. 85–107. Lewis Publisher, Boca Raton, FL, USA.

Barceló, J. & Poschenrieder, C., 2003. "Phytoremediation: principles and perspectivas". Contributions to Science, 2(3): 333-344.

Bernal, M.P., Clemente, R., Vazquez, S., Walter, D.J., 2007. "Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar". Ecosistemas, 16(2): 67-76.
(URL: http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=483&Id_Categoria=2&tipo=portada)

Bhakuni, D.S., Dhar, M.L., Dhar, M.M, Dhawan, B.N, Mehrotra, B.N., 1969. "Screening of Indian plants for biological activity. Part-II". Indian Journal of Experimental Biology, 7: 250-262.

Blaylock, M., Ensley, B., Salt, D., Kumar, N., Dushenkov, V., Raskin, I., 1995. "Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants". Biotechnology, 13(7): 468-474.

B.O.E. nº 262, 1990. "Real Decreto 1310/1990, de 29 de Octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario".

Bolaños, M.M., Lopez, E.G., 1949. "Jarales y Jaras". Ed. Ares, Madrid.

Bowen, G.D. & Rovira, A.D., 1991. "The rhizosphere, the hidden half of the hidden half". En: Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, Y., (eds.), "Plant Roots, the hidden half", pp. 641-669. Marcel Dekker Inc., New York.

Bradshaw, AD., 1993. "Understanding the fundamentals of succession". En: Miles J. & Walton D.H., (eds.), "Primary succession on land". Oxford: Blackwell.

Brooks, R.R., 1983. "Biological methods of prospecting for minerals". New York: Wiley-Interscience.

Castro, V.R., 1998. "Chromium in a Series of Portuguese plants used in the herbal treatment of diabetes". Biological Trace Element Research, 62: 101-106.

Chaney, RL., 1993. "Zinc phytotoxicity". En: Robson, A.D., (ed.), "Zinc in soil and plants", pp. 135–150. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Chaney, R.L., Li, Y.M., Brown, S.L., Homer, F.A., Malik, M., Angle, J.S., Baker, A.J.M., Reeves, R.D., Chin, M., 2000. "Improving metal hyperaccumulator wild plants to develop commercial phytoextraction systems: approaches and progress". En: Bañuelos, G.S. & Terry, N., (eds.), "Proceedings of the Fourth International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements", pp. 130-158. Berkeley, CA, 1997.

Chaney, R.L., Angle, J.S., McIntosh, M.S., Reeves, R.D., Lid, Y.M., Brewer, E.P., Chen, K.Y., Roseberg, R.J., Perner, H., Synkowski, E.C., Broadhurst, C.L., Wang S., Baker, A.J.M., 2005. "Using Hyperaccumulator Plants to Phytoextract Soil Ni and Cd". Zeitschrift für Naturforschung C, 60: 190-198.

Ciéslínski, G., Van Rees, K.C.J., Szmigielska, A.M., Krishnamurti, G.S.R., Huang, P.M., 1998. "Low-molecular-weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation". Plant and Soil, 203: 109–117.

Clemens, S., Palmgren, M.G., Krämer, U., 2002. "A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation". Trends in Plant Science, 7: 309–315.

Crowley, D.E., Wang, Y.C., Reid, C.P.P., Szansiszlo, P.J., 1991. "Mechanism of iron acquisition from siderophores by microorganisms and plants". Plant and Soil, 130: 179-198.

Courchesne, F., Séguin, V., Dufresne, A., 2001. "Solid Phase fractionation of metals in the rhizosphere of forest soils". En: Gobran, G.R., Wenzel, W.W., Lombi, E., (eds). "Trace Elements in the Rhizosphere", pp. 189-206. CRC Press, Boca Raton, FL.

Cunningham, S.D., Shann, J.R., Crowley, D.E., Anderson, T.A., 1997. "Phytoremediation of Contaminated Soil and Water". En: Kruger, E.L., Anderson, T.A., Coats, J.R. (eds.), "Phytoremediation of Soil and Water Contaminants", ACS Symposium Series 664, American Chemical Society, Washington, DC.

Denaix, L., Lamy, I., Masson, P., Mench, M., 2002. "Composition or speciation in the soil solution". En: Mench, M., (ed.), "COST 837 Meeting on Risk Assessment and Sustainable Land Management Using Plants in Trace Element Contaminated Soil". INRA, Bordeaux.

Dickinson, N.M., Punshon, T., Hodkinson, R.B., Lepp, N.W., 1994. "Metal tolerance and accumulation in willows". En: Aronsson P. & Perttu K., (eds.), "Willow Vegetation Filters for Municipal Wastewaters and Sludges. A Biological Purification System", pp. 121–127. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Diez Lázaro, J., Kidd, P.S., Monterroso Martínez, C., 2006. "A Phytogeochemical study of the Trás-os Montes region (NE Portugal): Possible species for plant-based soil remediation technologies". Science of the Total Environment, 354: 265-277.

Dos Santos Utmazian, M.N., Wieshammer, G., Vega, R., Wenzel, W.W., 2007. "Hydroponic screening for metal resistance and accumulation of cadmium and zinc in twenty clones of willows and poplars". Environmental Pollution, 148: 155-165.

El-Shatnawi, M.K.J. & Makhadmeh, I.M.,2001. "Ecophysiology of the plant-rhizosphere system". Journal of Agronomy and Crop Science, 187: 1–9.

Ernst, W.H.O., 1996. "Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants". Applied Geochemistry, 11: 163-167.

Farago, M. E. & Merha, A., 1991. "Uptake of Elements by the Copper-Tolerant Plant *Armeria maritime*". En: Merian, E. (ed.), "Metal Compounds in Environment and Life – Interrelation Between Chemistry and Biology", pp. 163–169. Proceedings of the Fourth Hans Wolfgang Nürnberg Memorial Workshop, 1991, 4.

Fernández, J.A. & Maldonado, J.M., 2000. "Absorción y transporte de nutrientes minerales". En: Azcón-Bieto, J. & Talón, M. (eds.), "Fundamentos de Fisiología Vegetal". Editorial Interamericana-McGraw Hill. Madrid.

Freitas, H., Prasad, M.N.V., Pratas, J., 2004. "Plant community tolerant to trace elements growing on the degraded soils of Sao Domingos mine in the south east of Portugal: environmental implications" Environment International, 30: 65– 72.

Frérot, H., Lefébvre, Gruber, C., Collin, W. C., Dos Santos, A., Escarre, J., 2006. "Specific interactions between local metallicolous plants improve the phytostabilization of mine soils". Plant and Soil, 282: 53–65.

Gleyzes, C., Tellier, S., Astruc, M., 2002. “Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures”. Trends in Analytical Chemistry, 21(6+7): 451-467.

Gobran, G.R., Clegg, S., Courchesne, F., 1998. “Rhizospheric processes influencing the biogeochemistry of forest ecosystems”. Biogeochemistry. 42: 107-120.

Granel, T., Robinson, B., Mills, T., Clothier, B., Green, S., Fung, L., 2002. “Cadmium accumulation by willow clones used for soil conservation, stock fodder and phytoremediation”. Australian Journal of Soil Research, 40: 1331–1337.

Hammer, D., Keller, C., 2002. “Changes in the rhizosphere of heavy metal accumulating plants as evidenced by chemical extractants”. Journal of Environmental Quality, 31: 1561-1569.

Greger, M., 2005. “Influence of willow *(Salix viminalis* L.) roots on soil metal chemistry: Effects of clones with varying metal uptake potential”. En: Huang, P.M., Gobran, G.R., (eds.), “Biochemistry of trace elements in the rhizosphere”, pp. 301-312. (First Edition) 2005 Elsevier B.V.

Hammer, D., Kayser, A., Keller, C., 2003. “Phytoextraction of Cd & Zn with *Salix viminalis* in field trials”. Soil Use and Management, 19: 187-192.

Hamon, R.E., Lorenz, S.E., Holm, P.E., Christensen, T.H., McGrath, S.P., 1995. “Change in trace metal species and other components of the rhizosphere during growth of radish”. Plant, Cell and Environment, 18: 749-756.

Hamon, R.E. & McLaughlin, J.M., 1999. “Use of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* for bioavailable contaminant stripping”. En: Wenzel, W.W., Adriano, D.C, Alloway, B., Doner, H.E., Keller, C., (eds.), “Proceedings of the 5th International Conference on the Biogeochemestry of Trace Elements”, pp. 908–909. Vienna, 11–15 July 1999.

Harris, J.A., Birch, P., Palmer, J.P., 1996. “Land Restoration and Reclamation, Principles and Practice”. Longman, London.

Hinsinger, P., 1998. “How do plant roots acquire mineral nutrients? Chemical processes involved in the rhizosphere”. Advances in Agronomy, 64: 225-265.

Huang, Y., Tao. S., Chen, Y.J., 2005. “The role of arbuscular mycorrhiza on change of heavy metal speciation in rhizosphere of maize in wastewater irrigated agriculture soil”. Journal of Environmental Sciences (China), 17(2): 276-80.

Jefferey, J.J. & Uren , N.C., 1983. “Copper and Zinc species in the soil solution and the effects of soil pH”. Australian Journal of Soil Research, 21: 479-488.

Johnson, M.S., Cooke, A., Stevenson, J.K., 1994. “Revegetation of metalliferous wastes and land after metal mining”. En: Hester, R.E. & Harrison, R.M., (eds), “Mining and its environmental impact”, pp 31-48. Royal Soc Of Chemistry, Letchworth, UK.

Juskiewicz-Swaczyna, B. & Endler, Z., 2003. “Bioaccumulation of metal ions in organs of common broom - *Cytisus scoparius* on former shooting range "Muszaki-Jagarzewo" (Masurian Plain)”. Acta Scientiarum Polonorum - Formatio Circumiectus, 2(2): 157-162.

Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 1992. “Trace Elements in Soils and Plants”. 2nd Edition. CRC Press Inc. Bocca Raton, Florida.

Kahle, H., 1993. “Response of roots of trees to heavy metals”. Environmental and Experimental Botany, 33: 99–119.
Keller, C., & Hammer, D., 2004. “Metal availability and soil toxicity after repeated croppings of *Thlaspi caerulescens* in metal contaminated soils”. Environmental Pollution, 131: 243-254.

Kidd, P.S., Diez, J., Monterroso, C., 2003. “Soil amendment optimisation to enhance phytoextraction by *Cistus ladanifer* subsp. *ladanifer* from contaminated soils”. Poster in “7th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements”. Uppsala, Suecia.

Kidd, P.S., Diez, J., Monterroso, C., 2004. “Tolerance and bioaccumulation of heavy metals in *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* and its potencial for phytoextraction”. Plant and Soil, 258: 189-205.

Kiekens, L., 1995. "Zinc". En: Alloway B.J., (ed.), "Heavy Metals in Soils". Blackie Academic and Professional Publ. New York.

Knight, B., Zhao, F.J., McGrath, S.P., Shen, Z.G., 1997. "Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* in contaminated soils and its effects on the concentration and chemical speciation of metals in soil solution". Plant and Soil, 197: 71-78.

Krishnamurti, G.S.R. & Naidu, R., 2002. "Solid solution speciation and phytoavailability of copper and zinc in soils". Environmental Science & Thecnology, 36: 2645-2651.

Kuzovkina, Y.A., Knee, M., Quigley, M.F., 2004. "Cadmium and copper uptake and translocation in five willow (*Salix L*.) species". International Journal of Phytoremediation, 6: 269-287.

Lakanen, E. & Ervio, R., 1971. "A comparison of eight extractans for the determination of plant available micronutrientsin soils". Acta Agralia Fennica, 123: 223-232.

Landberg, T. & Greger, M., 1996. "Differences in uptake and tolerance to heavy metals in Salix from unpolluted and polluted areas". Applied Geochemistry, 11: 175–180.

Landberg, T. & Greger, M., 2002. "Interclonal variation of heavy metal interactions in *Salix viminalis*". Environmental Toxicology and Chemistry, 21: 2669–2674.

Larsen, P.B., Degenhardt, J., Tai, C-Y., Stenzler, L.M., Howell, S.H., Kochian, L.V., 1998. "*Arabidopsis* mutants with increased aluminum resistance exhibit altered patterns of aluminum accumulation and organic acid release from roots". Plant Physiology, 117: 9-17.

Lasat, M.M., 2002. "Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms". Journal of Environmental Quality, 31: 109-120.

Laurie, S.H. & Manthey, J.A., 1994. "The Chemistry and role of metal ion chelation in plant uptake processes". En: Manthey, J.A., Crowley, D.E., Luster, D.G., (eds.), "Biochemistry of metal micronutrients in the rhizosphere", pp. 165-182. CRC Press. Boca Raton, F.L.

Legrand, P., Turmel, M.C., Sauvé, S., Courchesne, F., 2005. "Speciation and bioavailability of trace metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) in the rhizosphere of contaminated soils" En: Huang, P.M. & Gobran, G.R., (eds). "Biochemistry of trace elements in the rhizosphere", pp. 261-299. (First Edition) 2005 Elsevier B.V.

Levesque, M.P. & Mathur, S.P., 1986. "Soil tests for copper, iron and zinc in histosols, 1. The influence of soil properties, iron, manganese and zinc on the level and distribution of copper". Soil science, 142: 153-163.

Lindsay, W.L., 1972. "Zn in soil and plant nutrition". Advances in Agronomy, 24: 147-186.

Lindsay, W.L., 1979. "Chemical Equilibria in Soil". Wiley. New York.

Lux, A., Sottnikova, A., Opatma, J., Greger, M., 2004. "Differences in structure of adventitious roots in *Salix* clones with contrasting characteristics of cadmium accumulation and sensitivity". Physiologia Plantarum, 120(4): 537-545.

Lynch, J.M. & Whipps, J.M., 1990. "Substrate flow in the rhizosphere". Plant and Soil, 129: 1-10.

Ma, J.F., 2000. "Role of organic acids in detoxification of aluminum in plants". Plant and Cell Physiology, 41: 383–390.

Ma, J.F., Ryan, P.R., Delhaize, E., 2001. "Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids". Trends in Plant Science, 6: 273-278.

Madruga, M.J., Brogueira, A., Alberto, G., Cardoso, F., 2001. "^{226}Ra bioavailability to plants at the Urgeirica uranium mill tailings site". Journal of Environmental Radioactivity, 54: 175-188.

Marschner, H., 1995. "Mineral nutrition of higher plants". 2nd ed. London, UK: Academic Press.

Marschner, H., Römheld, V., 1996. "Root-induced changes in the availavility of micronutrients in the rhizosphere". En: Waisel, Y., Eshel, A., Kafkafi, U. (Eds). "Plant Roots, the hidden half", pp. 557-579. 2nd Ed. Marcel Dekker, New York.

Mauseth, J.D., 1988. "Plant Anatomy". The Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA.

Mcelroy, G.G., Dawson, W.M., 1986. “Biomass from short rotation coppice willow on marginal land”. Biomass, 10: 225-240.

McGrath, S.P., Sidoli, C.M.D, Baker, A.J.M., Reeves, R.D., 1993. “The potential for the use of metal-accumulating plants for the in situ decontamination of metal-polluted soils”. En: Eijsackers, H.J.P. & Hamers, T., (eds.), “Integrated soil and sediment research: A basis for proper protection”, pp. 673-676. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

McGrath, S.P., Shen, Z.G., Zhao, F.J., 1997. “Heavy metal uptake and chemical changes in the rhizosphere of *Thlaspi caerulescens* and *Thlaspi ochroleucum* grown in contaminated soils”. Plant and Soil, 188: 153-159.

McGrath, S.P., Zhao, F.J., Lombi, E., 2001. “Plant and rhizosphere processes involved in phytoremediation of metal-contaminated soils”. Plant and Soil, 232: 207–214.

McInnes, B.I.A., Dunn, C., Cameron, E.M., Kameko, L., 1996. “Biogeochemical exploration for gold in tropical rain forest regions of Papua New Guinea”. Journal of Geochemical Exploration, 57: 227– 243.

McLaughlin, M.J., Smolders, E., Merckx, R., 1998. “Soil-root interface: physicochemical proceses”. En: Huang, P.M., Adriano, D.C., Logan, T.J., Checkai, R.T., (eds.), “Soil Chemistry and Ecosystem Health”, pp. 233-277. SSSA Special Publication 52, Soil Science Society of America, Madison, WI.

Meers, E., Vervaeke, P., Tack, F.M.G., Lust, N., Verloo, M.G., Lesage, E., 2003. “Field trial experiment: phytoremediation with Salix sp. on a dredged sediment disposal site in Flanders, Belgium”. Remediation Journal, 13: 87–97.

Meers, E., Lamsal, S., Vervaeke, P., Hopgood, M., Lust, N., Tack, F.M.G., 2005. “Availability of heavy metals for uptake by *Salix viminalis* on a moderately contaminated dredged sediment disposal site”. Environmental Pollution, 137: 354-364.

Mejáre, M. & Bülow, L., 2001. “Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals”. Trends in Biotechnology, 19(2): 67-73.

Mench, M. & Martin, E., 1991. “Mobilization of cadmium and other metals from two soils by root exudates by *Zea mays* L., *Nicotina tabacum* L., and *Nicotina rustica* L.” Plant and Soil, 132: 187-196.

Mendez, M.O., & Maier, R.M., 2008. “Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments — An emerging remediation technology”. Environmental Health Perspectives, 116: 278–283.

Monni, S., Salemaa, M., White, C., Tuittila, E., Huopalainen, M., 2000. “Copper resistance of *Calluna vulgaris* originating from the pollution gradient of a Cu–Ni smelter in southwest Finland”. Environmental Pollution, 109: 211–219.

Murciego Murciego, A., García Sánchez, A., Rodríguez González, M.A., Pinilla Gil, E., Toro Gordillo C., Cabezas Fernández, J., Buyolo Triguero, T., 2007. “Antimony distribution and mobility in topsoils and plants (*Cytisus striatus, Cistus ladanifer* and *Dittrichia viscosa*) from polluted Sb-mining areas in Extremadura (Spain)”. Environmental Pollution, 145: 15-21.

Nye, P.H., 1986. “Acid-Base changes in the rhizosphere”. En: Tinker, B. & Lauchli, A., (eds.). “Advances in plant Nutrition”, pp. 129-153. Vol. 2. Praeger , New York.

Pastor, J., Hernández, A.J., Prieto, N., Fernández-Pascual, M., 2003. “Accumulating behaviour of *Lupinus albus* L. growing in a normal and a decalcified calcic luvisol polluted with Zn”. Journal of Plant Physiology, 160(12): 1457-1465.

Peech, M., Alexander, L.T., Dean, L.A., Deed, J.F., 1947. “Methods of soils analysis for soil fertility investigatons”. United States Department of Agriculture - Cir. 757. U.S. Gov. Print. Office, Washington, DC.

Pellet, D.M., Grunes, D.L., Kochian, L.V., 1995. “Organic acid exudation as an aluminum tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.)”. Planta, 196: 788–795.

Pérez-Otero, A., 1992. “Caracterización de los suelos de mina e impactos ambientales de la explotación de sulfuros metálicos de Arinteiro (La Coruña)”. Tesis Doctoral Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Biología.

Martin, P.J., & Stephens, W., 2006. "Willow growth in response to nutrients and moisture on a clay landfill cap soil. I. Growth and biomass production". Bioresource Technology, 97: 437–448.

Pratas, J., Prasad, M.N.V., Freitas, H., Conde, L., 2005. "Plants growing in abandoned mines of Portugal are useful for biogeochemical exploration of arsenic, antimony, tungsten and mine reclamation". Journal of Geochemical Exploration, 85: 99–107.

Pulford, I.D., Riddell-Black,D., Stewart,C., 2002. "Heavy metal uptake by willow clones from sewage sludge-treated soil: The potential for phytoremediation". Internacional Journal of phytoremediation, 4: 59-72.

Pulford, I. D. & Watson, C., 2003. "Phytoremediation of heavy-metal-contaminated land by trees – a review". Environment International, 29: 529-540.

Punshon, T. & Dickinson, N.M., 1997. "Acclimation of *Salix* to metal stress". New Phytology, 137: 303–314.

Ramos Solano, B., Pereyra de la Iglesia, M. T., Probanza, A., Lucas García, J. A., Megías, M., Gutierrez Manero, F. J., 2006. "Screening for PGPR to improve growth of *Cistus ladanifer* seedlings for reforestation of degraded mediterranean ecosystems". Plant and Soil, 287: 59–68.

Raskin, I. & Ensley, E.D., 2000. "Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean up the environment". John Wiley & Sons Inc.

Rauret, G., López-Sánchez, J.F., Sauquillo, A., Rubio, R., Davidson, C.M., Ure, A.M., Quevauviller, P.H., 1999. "Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials". Journal of Environmental Monitoring, 1: 57–61.

Rivera, D. & Obon, C., 1995. "The Ethnopharmacology of Maderia and Portosanto islands, a Review". Journal of Ethnopharmacology, 46(2): 73-93.

Rodríguez García, F., 2004. "Metales pesados en suelos y vegetación de una mina abandonada en el entorno de Pedrafita". Proyecto fin de carrera. Universidad de Santiago de Compostela. Departamento de Edafología y Química Agrícola.

Rosselli, W., Keller, C., Boschi, K., 2003. "Phytoextraction capacity of trees growing on a metal contaminated soil". Plant and Soil, 256: 265–272.

Rubio, C., González Weller, D., Martín-Izquierdo, R. E., Revert, C., Rodríguez, I., Hardisson, A., 2007. "El zinc: oligoelemento esencial". Nutrición Hospitalaria, 22(1): 101-107.

Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I., 1998. "Phytoremediation". Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49: 643–668.

Saltzman, B., Gross, S., Yeager, D., Meiners, B., Gartside, P., 1990. "Total Body burdens and tissue concentrations of lead, cadmium, cooper, zinc and ash in 55 human cadavers". Environmental Research, 52: 126-145.

Schnepf, A., Schrefl, T., Wenzel, W.W., 2002. "The suitability of pde-solvers in rhizosphere modeling, exemplified by three mechanistic rhizosphere models". Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 165: 713–718.

Schnoor, J.L., 1997. "Phytoremediation, Technology Overview Report". Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center, Series E, Vol. 1, October.

Schwartz, C., Morel, J.L., 1998. "How can agronomical practices improve phytoremediation of heavy metal contaminated soils?". Proccedings of the 6th Int FZK-TNO Conference on Contaminated Soil, ConSoil'98. London: Thomas Telford: 609-617.

Schwartz, C., Gerard, E., Perronnet, K., Morel, J. L., 2001. "Measurement of in situ phytoextraction of zinc by spontaneous metallophytes growing on a former smelter site". Science of the Total Environment, 279: 215-221.

Sengupta, M., 1993. "Environmental impacts of mining: monitoring, restoration and control". Boca Raton, FL: Lewis; 1993.

Shua, W.S., Yeb, Z.H., Lana, C.Y., Zhanga Z.Q., Wongb M.H., 2002. “Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*”. Environmental Pollution, 120: 445–453.

Siegel, R.K.. 1976. “Herbal intoxication psycho active effects from herbal cigarettes, tea, and capsules”. Journal Of the American Medical Association, 236(5): 473-476.

Smith, S.E. & Read, D.J., 1997. “Mycorrhizal symbiosis”. New York, Academic Press.

Sommer, P., Burguera, G., Wieshammer, G., Strauss, J., Ellersdorfer, G., Wenzel, W.W., 2002. “Effects of mycorrhizal associations on the metal uptake by willows from polluted soils: implication for soil remediation by phytoextraction”. Jahrestagung der Österreichischen Bodenkundlichen Gesllschaft, Wien.

Sottníková, A., Lunácková, L., Masarovicovaá, E., Lux, A., Stresko, V., 2003. “Changes in the rooting and growth of willows and poplars induced by cadmium”. Biologia Plantarum, 46: 129–131.

Stanley, J., 2002. “Rehabilitation of mines and other disturbed sites”.
http://www.hortresearch.co.nz/products/bioremediation/rehab/

Stoltz, E. & Greger, M., 2002. “Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings”. Environmental and Experimental Botany, 47: 271–280.

Sundararajan, R., Ahamed Haja, N., Venkatesan, K., Mukherjee, K., Pada Saha, B., Bandyopadhyay, A., Mukherjee, P. K., 2006. **“***Cytisus scoparius* link - A natural antioxidant”. BMC Complementary and Alternative Medicine, 6:8.

Tao, S., Liu, W.X., Chen, Y.J., Cao, J., Li, B.G. & Xu, F.L. 2005. “Fractionation and bioavailability of copper, cadmium and lead in rizosphere soil”. En: Huang, P.M. & Gobran, G.R., (eds)., “Biochemistry of trace elements in the rhizosphere”, pp. 313-336. (First Edition) 2005 Elsevier B.V.

Ure, A.M., Quevauviller, P., Muntau, H., Griepink, B., 1993. "Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities". International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 51: 135-151.

Van Campen, D.R., 1991. “Trace elements in human nutrition”. En: Mortverdt, J.J., Cox, F.R., Shuman, L.M., Welch, R.M., (eds)., “Micronutrients in agriculture”, pp. 663-701. 2nd Edition. Soil Science Society of America, Madison, WI.

Vandecasteele, B., De Vos, B., Tack, F.M.G., 2002. “Cadmium and zinc uptake by volunteer willow species and elder rooting in polluted dredged sediment disposal sites”. Science of the Total Environment, 299: 191–205.

Vandecasteele, B., Quataert, P., De Vos, B., Tack, F.M.G., Muys, B., 2004. “Foliar concentrations of volunteer willows growing on polluted sediment-derived sites versus sites with baseline contamination levels”. Journal of Environmental Monitoring, 6: 313–321.

Vandecasteele, B., Meers, E., Vervaeke, P., De Vos, B., Quataert, P., Tack, F. M.G., 2005. “Growth and trace metal accumulation of two *Salix* clones on sediment-derived soils with increasing contamination levels”. Chemosphere, 58: 995–1002.

Vandenhove, H., 2000. “Major sources of radioactive contamination, possible remediation options and role of phytostabilization”. En: Vandenhove, H., (ed.), “Topical Days on Phytomanagement of Contaminated Environments”, Mol, Belgium, Report SCK-CEN BLG-844.

Van de vivere, H., 2000. “Revegetation of industrial sites”. En: Vandenhove, H., (ed.), “Topical Days on Phytomanagement of Contaminated Environments”. Mol, Belgium, Report SCK-CEN BLG-844.

Vaughan, D., Lumsdon, D.G., Linehan, D.J., 1993. “Influence of dissolved organic matter on the bio-availability and toxicity of metals in soils and aquatic systems”. Chemistry and Ecology, 8: 185-201.

Vervaeke, P., Luyssaert, S., Mertens, J., De Vos, B., Speleers, L., Lust, N., 2001. “Dredged sediment as a substrate for biomass production of willow trees established using the SALIMAT technique”. Biomass and Bioenergy, 21: 81–90.

Wang, Z., Göttlein, A., Bartonek, G., 2001. “Effects of growing roots of Norway spruce (*Picea abies* (L.)Karst.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) on rhizosphere soil solution chemistry”. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 164: 35-41.

Watson, C., Pulford, I.D., Riddell-Black, D., 1999. “Heavy metal toxicity responses of two willow varieties grown hydroponically: development of a tolerance screening test”. Environmental Geochemistry and Health, 21: 359–364.

Watson, C., Pulford, I.D., Riddell-Black, D., 2003. “Screening of willow species for resistance to heavy metals: comparison of performance in a hydroponics system and field trials”. International Journal of Phytoremediation, 5: 351-365.

Wenzel, W.W., Bunkowski, M., Puschenreiter, M., Horak, O., 2002. “Rhizosphere characteristics of indigenously growing nickel hyperaccumulator and excluder plants on serpentine soil”. Environmental Pollution 123: 131–138.

Wierzbicka, M., 1999. “Comparison of lead tolerance in *Allium* cepa with other plant species”. Environmental Pollution, 104: 41–52.

Whiting, S.N., Reeves, R.D., Richards, D., Johnson, M.S., Cooke, J.A., Malaisse, F., Paton, A., Smith, J. A.C., Angle, J.S., Chaney, R.L., Ginocchio, R., Jaffré, T., Johns, R., McIntyre, T., Purvis, O.W., Salt, D.E., Zhao, F.J., Baker, A J., 2004. “Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation”. Restoration Ecology, 12(1): 106–116.

Wilkins, D.A., 1978. “The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth”. New Phytologist, 80: 623–633.

Wong, M.H., 2003. “Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils”. Chemosphere, 50: 775-780.

Yanga, X., Fenga, Y., Hea, Z., Stoffella, P.J., 2005. “Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation”. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 18: 339–353.

Youssef, R.A. & Chino, M., 1991. “Movement of metals from soil to plant roots”. Water, Air, and Soil Pollution, 57-58: 249-258.

Zhao, F.J., Lombi, E., McGrath, S.P., 2003. “Assessing the potential for zinc and cadmium phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*”. Plant and Soil, 249: 37-43.

CAPÍTULO 6

FITOEXTRACCIÓN INDUCIDA DE Cr EN SUELOS CONTAMINADOS CON RESIDUOS DE CURTIDURÍA

Resumen:

El Cr aparece frecuentemente como un contaminante ambiental debido a la ejecución de diferentes actividades antrópicas, considerándose un elemento tóxico a muy diferentes niveles. Entre las distintas tecnologías de descontaminación de Cr, la búsqueda de plantas para su utilización en procesos de fitoextracción ha ganado gran interés, debido a que usualmente se trata de un elemento poco móvil y de baja acumulación (<1 mg kg^{-1}) sobre un amplio rango de concentraciones en el suelo. En este capítulo se ha evaluado la aplicación de ácido picolínico (AP) y ácido etilendiaminodisuccínico (EDDS) para inducir la fitoextracción de Cr por *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae), *Brassica juncea* L. (Brassicaceae) y *Salix viminalis* L. (Salicaceae) sobre sustratos contaminados con distintas cantidades de lodos residuales procedentes de una industria del cuero. La adición de EDDS, pero no de AP, supuso un incremento significativo ($P<0.05$) del Cr soluble en los sustratos contaminados, e incrementó su biodisponinilidad para las plantas en torno a 3 veces con la adición de dosis sucesivas. Las especies difirieron en su capacidad de tolerar los elevados niveles de Cr en los sustratos contaminados, de manera que *S. viminalis* y principalmente *C. ladanifer* mostraron síntomas de toxicidad y una reducción de biomasa aérea, que en el caso de *C. ladanifer* llegó a ser de más de 8 veces. El crecimiento de *B. juncea*, contrariamente, a penas se vio afectado por el contenido en Cr del sustrato, mostrando índices de tolerancia (TI) siempre superiores al 80% dentro del rango de contaminación estudiado. Tanto *C. ladanifer* como *S. viminalis* presentaron, independientemente de la adición de AP o EDDS, un mecanismo de exclusión frente al Cr, mostrando una acumulación preferencial del metal en la raíz (IT<1), mientras que *B. juncea* mostró una acumulación mayoritaria de Cr en su parte aérea (IT>1). De acuerdo con el incremento de la fracción soluble y biodisponible de Cr en los sustratos contaminados, la adición de AP incrementó habitualmente de forma ligera y no significativa ($P<0.05$) la acumulación de Cr en los tejidos vegetales. La adición de EDDS, sin embargo, supuso un incremento significativo ($P<0.05$) de la concentración de Cr en las raíces de *S. viminalis* y *C. ladanifer* de hasta 2.5 y 6 veces, con concentraciones máximas de 1277 y 372 mg Cr kg^{-1}, respectivamente, mientras que el incremento de Cr en la parte aérea fue menor, con máximos de 46 y 161 mg Cr kg^{-1}, respectivamente. Por su parte, *B. juncea* no mostró variaciones de Cr significativas ($P<0.05$) en la raíz con la adición de EDDS, pero sí en su parte aérea, con un incremento de hasta más de 14 veces debido a una estimulación de la translocación desde la raíz hacia la parte aérea. La concentración máxima de Cr en la parte aérea de *B. juncea* tras la adición de EDDS sobre los sustratos contaminados fue de hasta 1014 mg kg^{-1}, un nivel de acumulación de una hiperacumuladora. Estos resultados son prometedores en cuanto a la aplicación de *B. juncea* en procesos de fitoextracción de Cr, con una extracción efectiva en la parte aérea de hasta 249 µg por individuo en un período de crecimiento de 16 semanas. Así mismo, debe considerarse la cantidad de Cr acumulado en las raíces de *S. viminalis* tras la adición de EDDS, con valores de extracción de hasta 613 µg por individuo. Estos resultados sugieren que la posibilidad del cosechado de la raíz de *S. viminalis* en la etapa final del proceso de fitoextracción de Cr debe considerarse como una opción.

1. INTRODUCCIÓN

El Cr se muestra frecuentemente como un contaminante ambiental a causa de fugas, almacenaje indebido o deposición impropia de residuos procedentes de determinadas actividades industriales, tales como la manufacturación de aleaciones metálicas y de limpieza de metales, cerámicas, elementos pirotécnicos y electrónicos, procesos de curtido de cuero, de conservación de madera, etc. (Cervantes, 1991; Ohtake et al., 1990; Garbisu et al., 1997; Wittbrodt et al., 1996; Canali et al., 1997). La producción de Cr global acumulada hasta el año 2000 ha sido estimada en 105.4 millones de toneladas, y se ha incrementado significativamente desde 1950 (Han et al., 2002). El Cr añadido a los suelos puede mostrar dos estados de oxidación que difieren en su movilidad y peligrosidad, el Cr (VI) y el Cr (III) (Wittbrodt & Palmer, 1996; Kabata-Pendias et al., 2000; Han et al., 2004a). En un rango de pH de neutro a alcalino, las especies de Cr (III) se consideran insolubles y poco móviles y tienden a oxidarse a Cr (VI), con una mayor solubilidad y movilidad en estas condiciones, estimándose aproximadamente 100 veces más tóxico (Cary et al., 1977b; Kozuh et al., 2000; Srivastava et al., 1999a; Lull et al., 1983; Adriano, 2001).

Se han propuesto distintas tecnologías de descontaminación de suelos y aguas contaminados en Cr, incluida la fitocorrección mediante la utilización de plantas. Sin embargo, aunque existen algunas plantas que pueden llegar a acumular cantidades apreciables de Cr (como algunas especies originarias de serpentinas o depósitos de Cr que pueden alcanzar un 0.3% de Cr en su parte aérea (Kabata-Pendias, 2001) o especies de plantas seleccionadas como *Sutera fodina*, *Dicoma niccolifera* o *Leptospermum scoparium* (Peterson & Girling, 1981)), los niveles habituales en las hojas de las plantas son normalmente < 1 mg kg^{-1} sobre un amplio rango de concentraciones de Cr en el suelo (McGrath & Smith, 1990; Losi et al., 1994; Adriano, 2001; Alloway, 1991). Este hecho se relaciona con la baja fitodisponibilidad del Cr trivalente, la forma de Cr habitualmente más común en el suelo, y con los mecanismos de detoxificación que usualmente presentan las plantas, basados en una pobre translocación del Cr desde las raíces hacia la parte aérea y en su retención en vacuolas y paredes celulares de las raíces (Adriano, 1986; Cary et al., 1977a; Kiekens et al., 1987; Myttenaere & Mousny, 1974; Vazquez et al., 1987; Barceló & Poschenrieder, 1997). Chandra et al. (1997), por ejemplo, demostraron que *Scirpus lacustris, Phragmites karka* y *Bacopa monnieri* fueron capaces de crecer en lodos procedentes del curtido de pieles, pero la mayor parte del Cr extraído por estas especies fue acumulado en las raíces. Otros ejemplos de la baja translocación de Cr desde las raíces hacia la parte aérea fueron dados en *Phragmites australis* (Calheiros et al., 2007), *Eichhornia crassipes* (Lytle et al., 1998), *Zea mays* (Sharma et al., 2003) o *Alternanthera sessilis* (Sinha et al., 2002). También Pulford et al. (2001), en un estudio con especies arbóreas, confirmaron que el Cr es pobremente acumulado en los tejidos aéreos. Este comportamiento general de las plantas frente al Cr supone que la fitoestabilización se proponga generalmente como la técnica de fitocorrección más prometedora en relación a este metal (Chaney et al., 1997; Shanker et al., 2003).

El hecho de que sea la pobre translocación de Cr desde las raíces hacia la parte aérea el mayor obstáculo para el uso de las plantas y árboles en procesos de fitoextracción de Cr, incentiva, no obstante, el desarrollo de investigaciones con el objetivo de incrementar esa translocación mediante la adición de enmiendas químicas y/o biológicas al suelo. Numerosos agentes quelantes, habitualmente diferentes ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOAs) y agentes quelantes sintéticos como el ácido etilendiamintetracético (EDTA), han sido ampliamente utilizados en la última década para tratar de inducir la solubilización de distintos metales en los suelos y su absorción y translocación en plantas de elevada producción de biomasa (fitoextracción inducida, Tabla 1). Un elevado porcentaje de los trabajos realizados hasta el momento en este sentido engloban la inducción de la acumulación de Pb mediante la adición de EDTA, que posee una gran afinidad por este metal en la mayoría de los suelos con pH entre 5.2 y 7.7 (Sommers & Lindsay 1979; Martell et al., 1998; Orama et al., 2002) (Tabla 1). Existen relativamente pocos trabajos centrados en la inducción de la acumulación de Cr en plantas, aunque parece que los ácidos orgánicos (cítrico y oxálico) podrían jugar un papel importante en este proceso (Chen et al., 1994; Davies et al., 2001). Srivastava et al. (1999a, 1999b), Shanker et al. (2005) o Shahandeh & Hossner (2000a), por ejemplo, mostraron que este tipo de sustancias húmicas inducen la solubilidad y disponibilidad de Cr (III) en diferentes especies de plantas (Tabla 1). Así mismo, Simon et al. (2001, 2003) detectaron una inducción de la acumulación de Cr en *Raphanus sativus* y en *Brassica campestris* mediante la adición de EDTA y ácido picolínico. Otro tipo de quelantes, contrariamente, no muestran un efecto positivo consistente en la acumulación de Cr en plantas (Tabla 1).

Los estudios sobre la inducción de la absorción y translocación de metales tóxicos suelen llevarse a cabo con especies de plantas con una elevada producción de biomasa, fundamentalmente plantas de cultivo como *Brassica juncea*, *Zea mays* o *Helianthus annuus* (Tabla 1). La búsqueda de plantas útiles para la fitoextracción de Cr en suelos contaminados está ganando gran interés, de manera que la absorción y acumulación de Cr por varias especies de plantas está recibiendo una atención considerable (Calheiros et al., 2007; Audet & Charest, 2007). Shahandeh & Hossner (2000b), por ejemplo, compararon la acumulación de Cr en 36 especies de plantas y encontraron que *B. juncea* y *H. annuus* acumularon más Cr del suelo que otras especies vegetales agrícolas, mostrando potencial para la descontaminación de suelos. En cuanto a la utilización de uno u otro agente quelante, existe una gran controversia, ya que agentes quelantes como el EDTA no son fácilmente biodegradables y pueden permanecer largo tiempo adsorbidos a las partículas del suelo tras el proceso de fitoextracción (Wasay et al., 1998; Lombi et al., 2001; Krishnamurti et al., 1998). Autores como Sun et al. (2001), Madrid et al. (2003), Chen et al., (2004) o Wu et al. (2004), ponen de manifiesto el peligro de que agentes quelantes como el EDTA produzcan, en adición, una lixiviación de cantidades elevadas de compuestos metálicos hacia las partes inferiores del perfil del suelo, llegando posiblemente a las aguas subterráneas y provocando un elevado riesgo ambiental. Resultados similares de lixiviación de metales también han sido encontrados en el

caso del ácido glicol-eter-diamintetracético (EDGA) (Römkens et al., 2002), los ácidos nitrilotriacético (NTA) y N-(2-hidroxietil)-iminodiacético (HEIDA) (Chiu et al., 2005) y los ácidos trans-1,2-ciclohexilendinitrilotetracético (CDTA) y el dietilentriaminpentacético (DTPA) (Cooper et al., 1999), mientras que algunos autores proponen al ácido etilendiaminodisuccínico (EDDS) como un agente quelante prometedor por su fácil biodegradabilidad y por provocar una menor lixiviación de metales (Greman et al., 2003; Kos & Lestan, 2003; Luo et al., 2006b; Meers et al., 2005a). También el uso de compuestos naturales, como ácidos húmicos o ácidos orgánicos de bajo peso molecular, que son fácilmente biodegradados, favorece la formación de complejos con los metales permaneciendo biodisponibles para las plantas al mismo tiempo que previenen su movilidad ambiental al estabilizar gran parte de ellos (Srivastava et al., 1999b; Halim et al., 2003; Evangelou et al., 2004; Clemente & Bernal, 2006; White et al., 2003; Hsiao et al., 2007). En este caso, la obtención de una cantidad suficiente de ácidos húmicos para su utilización en fitoextracción supone un gasto económico que impide que puedan competir con los quelantes sintéticos (Evangelou et al., 2004), por lo que, en cualquier caso, se deben continuar investigando otros quelantes naturales o bioquelatos que puedan reemplazar a los sintéticos y las mejores combinaciones de plantas y agentes quelantes para ser usados en los procesos de fitoextracción inducida.

En el presente trabajo se pretende valorar el efecto provocado por dos agentes quelantes seleccionados (ácido picolínico (AP) y ácido etilendiaminodisuccínico (EDDS)) sobre la acumulación de Cr por 3 especies vegetales diferentes: *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae), *Brassica juncea* L. (Brassicaceae) y *Salix viminalis* L. (Salicaceae). Considerando los aspectos mencionados, los objetivos del estudio se centraron en:

a) Evaluar el efecto del AP y del EDDS sobre la solubilidad, movilidad y biodisponibilidad del Cr en sustratos contaminados con diferentes cantidades de lodos procedentes de una industria de curtido de cuero.
b) Comparar la tolerancia, absorción, translocación y bioacumulación de Cr en *C. ladanifer*, *B. juncea* y *S. viminalis* creciendo sobre los sustratos contaminados y evaluar el efecto provocado por la adición de AP y EDDS sobre estos parámetros.
c) Determinar la mejor combinación planta-quelante y valorar la eficiencia de fitoextracción de Cr y la aplicabilidad del proceso en cada caso.

Tabla 1.- Recopilación de estudios previos con agentes quelantes adicionados a los suelos para inducir la acumulación de metales en la parte aérea de las plantas (LMWOAs= ácidos orgánicos de bajo peso molecular).

Agente Quelante	Dosis suministrada (mmol kg^{-1})	Metal/es considerado/s	Especie/s vegetal/es considerada/s	Efecto positivo en acumulación	Referencia
EDTA	3.4	Pb	*Hemidesmus indicus*	Sí	Sekhar et al., 2005
	2.5 – 5	Pb	*Zea mays/ Sorghum bicolour/ Vigna radiata/ Helianthus annuus/ Fagopyrum esculentum/ Brassica rapa/ Brassica juncea/ Pisum sativum/ Triticum aestivum/ Hordeum vulgare*	Sí (principalmente en *Pisum sativum*)	Chen et al., 2004
	3	Pb	*Brasicca juncea*	Sí	Epstein et al., 1999
	1.4	Pb	*Zea mays*	Sí	Huang et al., 1997
	3	Pb	*Brassica rapa/ Vigna radiata/ Triticum aestivum*	Sí	Shen et al., 2002
	0.125	Pb/Cu	*Nicotiana tabacum*	Sí (principalmente de Pb)	Evangelou et al., 2006
	3.4	Pb/Cd	*Thlaspi goesingense/ Amaranthus hybridus*	Sí salvo para el caso del Pb en *Thlaspi*.	Puschenreiter et al., 2001
	2 / 5	Pb/Cd/Zn	*Dianthus chinesis*	Sí en Pb/Cd.	Lai & Chen, 2005
	4x10	Pb/Cd/Zn	*Brassica rapa*	Sí (principalmente de Pb)	Gréman et al., 2003
	3	Pb/Cd/Zn	*Zea mays/ Populus nigra x Populus maximowiczii*	Sí en Pb y en *Populus* también en Zn	Komárek et al., 2007
	5	Pb/Cd/Zn	*Brassica napus/ Amaranthus spp./ Cannabis sativa/ Linum usitatissimum/ Trifolium pratense/ Trifolium repens/ Medicago sativa/ Zea mays/ Raphanus sativus/ Sinapis alba/ Sorghum vulgare/ Brassicca rapa/ Arundo donax*	Sí (principalmente de Pb)	Kos et al., 2003
	1.3	Pb/Cd/Zn	*Brachiaria decumbens*	Sí	Santos et al., 2006
	5	Pb/Cd/Zn/Cu	*Zea mays/ Plaseolus vulgaris*	Sí (principalmente de Pb/Cu)	Luo et al., 2005
	3	Pb/Cd/Zn/Cu	*Brassica juncea*	Ligeramente en Pb/Cu	Wu et al., 2004
	0.5/1/2/5/10/20	Zn/Cu/As	*Vetiveria zizaniodes/ Zea mays*	Sí *	Chiu et al., 2005
	0.1	Cd	*Brassica juncea*	Ligeramente	Jiang et al., 2003
	3.4	Cd/Zn/Cu	*Agrostis castellana/ Corrigiola telephiifolia*	Sí en Cu	Pastor et al., 2007
	0.8-4	Cd/Zn/Cu/Ni	*Helianthus annuus*	Sí (principalmente Cu)	Meers et al., 2005a
	0.34/ 1/ 3.4/ 10.2	Cd/Ni/Cr	*Helianthus annuus*	Sí	Turgut et al., 2004a, 2004b
	0.05-0.1	Ni/Cr	*Brassica juncea*	Sí *	Hsiao et al., 2007
	17.1/34.2/68.4/136.8	Ni/Co	*Berkheya coddii*	No	Robinson et al., 1999
	2.4	Cr	*Raphanus sativus/ Brassica campestris*	Sí	Simon et al., 2003
	1.7-3.4	Cd/Cr/Ni	*Helianthus annuus*	Sí en Cd y Ni	Chen & Cutright, 2001
	¿?	Cr	*Helianthus annuus/ Brassica juncea*	Sí	Shahandeh & Hossner, 2000a
	2	Cr	*Brassica juncea*	Sí	Han et al., 2004b
EDTA+EDDS	3.3+1.7	Pb/Cd/Zn/Cu	*Zea mays*	Sí (principalmente Pb)	Luo et al., 2006a

Tabla 1.- (continuación)

EDDS	4 X10	Pb/Cd/Zn	*Brassica rapa*	Sí (principalmente Pb)	Gréman et al., 2003
	5 / 10	Pb/Cd/Zn	*Brassica napus/ Amaranthus spp./ Cannabis sativa/ Linum usitatissimum/ Trifolium pratense/ Trifolium repens/ Medicago sativa/ Zea mays/ Raphanus sativus/ Sinapis alba/ Sorghum vulgare/ Brassicca rapa/ Arundo donax*	Sí (principalmente Pb)	Kos et al., 2003
	1.3	Pb/Cd/Zn	*Brachiaria decumbens*	Sí (principalmente Pb)	Santos et al., 2006
	5	Pb/Cd/Zn/Cu	*Zea mays/ Phaseolus vulgaris*	Sí (principalmente Pb/Cu)	Luo et al., 2005
	5	Pb/Cd/Zn/Cu	*Chrysanthemum coronarium/ Zea mays*	Sí	Luo et al., 2006b
	1.6-8	Cd/Zn/Cu/Ni	*Helianthus annuus*	Sí (principalmente Cu)	Meers et al., 2005a
DTPA	2.5	Pb	*Hemidesmus indicus*	No	Sekhar et al., 2005
	5 / 10	Pb	*Brassica juncea*	Sí	Blaylock et al., 1997
	1.3	Pb	*Zea mays/ Pisum sativum*	Sí	Huang et al., 1997
	1.5	Pb	*Brassica rapa/ Vigna radiata/ Triticum aestivum*	Sí	Shen et al., 2002
	0.5/1/2/5/10/20	As/Zn/Cu	*Vetiveria zizaniodes/ Zea mays*	Sí *	Chiu et al., 2005
	2.5	Cd/Zn/Cu	*Agrostis castellana/ Corrigiola telephiifolia*	Ligeramente	Pastor et al., 2007
	12.7/25.4/50.8/101.7	Ni/Co	*Berkheya coddii*	No	Robinson et al., 1999
	0.05-0.1	Ni/Cr	*Brassica juncea*	Sí *	Hsiao et al., 2007
NTA	1.5	Pb	*Brassica rapa/ Vigna radiata/ Triticum aestivum*	No	Shen et al., 2002
	5	Pb/Cd/Zn/Cu/Cr	*Brassica juncea*	Sí	Quartacci et al., 2006
	10 / 20	Cd	*Brassica juncea*	Sí *	Quartacci et al., 2005
	10 / 20	Cd	*Lactuca sativa*	Ligeramente *	Kulli et al., 1999
	n veces 4.2-8.4	Cd/Zn/Cu	*Brassica juncea/ Nicottiana tabacum/ Zea mays*	Sí *	Kayser et al., 2000
	1x0.5 / 2x1	Cd/Zn/Cu	*Zea mays*	Sí *	Wenger et al., 2002
	0.8-1.6	Cd/Zn/Cu/Ni	*Helianthus annuus*	No	Meers et al., 2005
	1.25	Cd/Zn/Cu/Mn/As	*Lupinus albus*	Sí	Peñalosa et al., 2007
	2.7/9.3/26.6	Zn	*Lolium perenne*	Ligeramente (sin efecto con máxima adición) *	Kulli et al., 1999
	0.5/1/2/5/10/20	Zn/Cu/As	*Vetiveria zizaniodes/ Zea mays*	Sí *	Chiu et al., 2005
	26.1/52.3/104.6/209.2	Ni/Co	*Berkheya coddii*	No	Robinson et al., 1999
EGTA	5 / 10	Pb	*Brassica juncea*	Sí	Blaylock et al., 1997
	1.3	Pb	*Zea mays*	Sí	Huang et al., 1997
	0.5/1/2/5/10/20	Zn/Cu/As	*Vetiveria zizaniodes/ Zea mays*	Sí *	Chiu et al., 2005
HEDTA	2.9	Pb	*Hemidesmus indicus*	Sí *	Sekhar et al., 2005
	1.45	Pb	*Zea mays/ Pisum sativum*	Sí *	Huang et al.,, 1997
	1.5	Pb	*Brassica rapa/ Vigna radiata/ Triticum aestivum*	Sí	Shen et al., 2002
	0.5/1/2/5/10/20	Zn/Cu/As	*Vetiveria zizaniodes/ Zea mays*	Sí *	Chiu et al., 2005
	1.8-3.6	Cd/Cr/Ni	*Helianthus annuus*	Sí en Cd y Ni	Chen & Cutright, 2001

Tabla 1.- (continuación)

CDTA	2.7	Pb	*Hemidesmus indicus*	No	Sekhar et al., 2005
	5 / 10	Pb	*Brassica juncea*	Sí	Blaylock et al., 1997
	0.5/1/2/5/10/20	Zn/Cu/As	*Vetiveria zizaniodes/ Zea mays*	Sí *	Chiu et al., 2005
EDDHA	1.4	Pb	*Zea mays/ Pisum sativum*	Sí	Huang et al., 1997
HEIDA	0.5/1/2/5/10/20	Zn/Cu/As	*Vetiveria zizaniodes/ Zea mays*	Sí, principalmente de Cu*	Chiu et al., 2005
NH_4Cl	10/20/30	Pb/Cd/Zn	*Zea mays/ Populus nigra x Populus maximowiczii*	Sí en Zn (en *Populus*)	Komarek et al., 2007
$(NH_4)_2SO_4$	0.57	Pb/Cd	*Thlaspi goesingense/ Amaranthus hybridus*	Sí (salvo para Pb en *Thlaspi*)	Puschenreiter et al., 2001
Ác. Cítrico	1.5	Pb	*Brassica rapa/ Vigna radiata/ Triticum aestivum*	No	Shen et al., 2002
	3	Pb/Cd/Cu/Zn	*Brassica juncea*	Sí en Pb *	Wu et al., 2004
	5	Pb/Cd/Cu/Zn/Cr	*Brassica juncea*	No	Quartacci et al., 2006
	25/ 100	Cd/Cu/Zn/Ni	*Helianthus annuus*	No	Meers et al., 2005
	0.5/1.5/5.2	Cd/Cr/Ni	*Helianthus annuus*	Sí	Turgut et al., 2004a, 2004b
	10/ 20	Cd	*Brassica juncea*	Sí *	Quartacci et al., 2005
	20	U	*Brassica juncea/ Brassica chinesis/ Brassica narinosa/ Pisum sativum/ Pisum vulgaris/ Zea mays*	Sí (principalmente en el género *Brassica*)	Huang et al., 1998
	62.5	Pb/Cu	*Nicotiana tabacum*	Sí en Cu *	Evangelou et al., 2006
	0.5/1/2/5/10/20	Cu/Zn/As	*Vetiveria zizaniodes/ Zea mays*	Sí *	Chiu et al., 2005
	50	Cu	*Elsholtzia splendens/ Trifolium repens.*	Sí	Chen et al., 2006
	0.05-0.1	Cr/Ni	*Brassica juncea*	Sí *	Hsiao et al., 2007
	1:1/ 1:10/ 1:100 en relación a la [Cr]	Cr (III)/Cr (IV)	*Zea mays*	Sí en Cr (III)	Srivastava et al., 1999b
	20	Cr (III)/Cr (IV)	*Albizia amara/ Casuarina equisetifolia/ Tectona grandis/ Leucaena luecocephala*	Sí *	Shanker et al., 2005
	¿?	Cr	*Helianthus annuus/ Brassica juncea*	Sí	Shahandeh & Hossner, 2000a
Otros LMWOAs	Oxálico (0.05-0.1)	Cr/Ni	*Brassica juncea*	Sí *	Hsiao et al., 2007
	Oxálico (¿?)	Cr	*Helianthus annuus/ Brassica juncea*	Sí	Shahandeh & Hossner, 2000a
	Oxálico/Tartálico (62.5)	Pb/Cu	*Nicotiana tabacum*	Sí en Cu *	Evangelou et al., 2006
	Málico (0.5/1/2/5/10/20)	Cu/Zn/As	*Vetiveria zizaniodes/ Zea mays*	Sí *	Chiu et al., 2005
	Málico/Aspártico/Glicina (1:1/1:10/1:100 en relación a la [Cr])	Cr (III)/Cr (IV)	*Zea mays*	Sí en Cr (III)	Srivastava et al., 1999b
	Ácidos húmicos (2g kg^{-1})	Cd	*Nicotiana tabacum*	Sí *	Evangelou et al., 2004
Ác. Picolínico	4x0.56/ 1x5.6/ 4x5.6	Cr	*Raphanus sativus/ Brassica campestris*	Sí	Simon et al., 2003

*** sólo una pequeña fracción en parte aérea**

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Sustratos de crecimiento

Los sustratos de crecimiento utilizados para la realización del ensayo fueron elaborados a partir del horizonte A de dos suelos de origen granítico (<8 mm) recogidos en la provincia de A Coruña. El encalado de los suelos permitió obtener un sustrato de crecimiento final con un pH en agua cercano a la neutralidad, con el fin de favorecer la movilidad y biodisponibilidad del Cr VI (Adriano, 2001). La contaminación de los sustratos generados se llevó a cabo mediante la adición de lodos residuales de una industria de curtido de cueros, caracterizados por un pH en agua en torno a 6.4 y un pH_{KCl} en torno a 7.0, un porcentaje de humedad del 79.1%, un 30.9% en C y un 4.9% en N (C:N=6.3). Las concentraciones de metales pesados en el lodo se encontraron en torno a 1016, 42, 282, 288, 49, <30 y <30 mg kg^{-1} de peso seco de Mn, Ni, Zn, Pb, Cu, Co y Cd, respectivamente, y fue especialmente elevada en el caso del Cr, con concentraciones medias de 44112 mg kg^{-1} de peso seco.

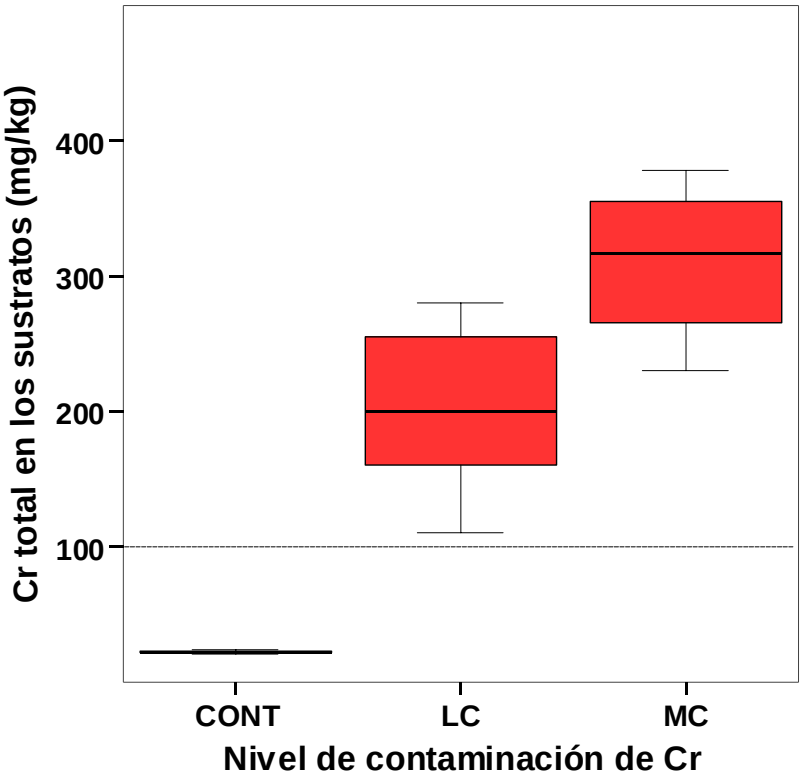

Figura 1.- Mediana y rangos intercuartílicos del contenido en Cr total en donde se engloban el 50% (cajas) y el 95% (bigotes) de los sustratos pertenecientes a los tres niveles de contaminación (CONT, LC y MC). El valor de 100 mg kg^{-1} indica el contenido de Cr máximo permitido en suelos según el R.D 1310/1990 (B.O.E nº 262, 1990).

Tabla 2.- Valores medios de distintas propiedades físico-químicas en los sustratos pertenecientes a distintos niveles de contaminación (CONT/ LC/ MC).

	CONT	LC	MC
pH_{H2O}	6.4	6.43	6.14
PH_{KCl}	6.2	6.36	5.77
P Olsen (mg kg^{-1})	7.85	9.53	8.08
C (%)	1.4	1.20	1.32
N (%)	0.09	0.10	0.12
Cationes de cambio (NH_4Cl 1N) (cmol(+) kg^{-1})			
Ca^{2+}	9.34	10.17	10.15
Mg^{2+}	0.41	0.39	0.41
Na^{+}	0.18	0.35	0.49
K^{+}	0.38	0.36	0.38
Al^{3+}	<	<	<
CICe	10.3	11.26	11.44

La adición de tres cantidades diferentes de lodo permitió la obtención de tres niveles de contaminación en los sustratos de crecimiento: No Contaminado (CONT), Ligeramente contaminado (LC) y Moderadamente contaminado (MC) (Figura 1). Los sustratos contaminados superaron en mayor o menor grado el límite de concentración de Cr estipulado por el R.D 1310/1990 (B.O.E nº 262, 1990) sobre suelos con pH<7, establecido en 100 mg kg^{-1} (de materia seca de una muestra representativa de los suelos). Así mismo, distintos autores como Tietjen (1975) o Kabata-Pendias & Pendias (1984) marcan también en 100 mg kg^{-1} de Cr el límite de fitotoxicidad.

Todos los sustratos fueron fertilizados con 50 mg kg^{-1} de N en forma de NH_4NO_3 para mejorar el crecimiento de las plantas y almacenados durante 4 semanas hasta alcanzar condiciones de equilibrio. Las características físico-químicas básicas finales de los sustratos resultantes se resumen en la tabla 2.

Material vegetal y condiciones de crecimiento

Las especies vegetales empleadas en el ensayo fueron *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae), *Brassica juncea* L. (Brassicaceae) y *Salix viminalis* L. (Salicaceae).

Cistus ladanifer es un arbusto que coloniza frecuentemente suelos serpentiníticos caracterizados por la presencia de altos niveles de Ni, Cr y Co (Alados et al., 1999; Díez et al., 2006; Freitas et al., 2004), con poblaciones con un elevado nivel de tolerancia y acumulación de Cr en cultivos hidropónicos (Kidd et al., 2004). Las semillas de *C. ladanifer* empleadas en el ensayo pertenecieron a una población originaria de un sustrato ultrabásico de la región de Tras-Os-Montes (NE Portugal), definido por las coordenadas UTM 29T 0676541/4635067 y caracterizado por la existencia de suelos con elevadas cantidades de Cr (1300 mg kg^{-1} en el horizonte A), entre otros metales pesados (Díez et al., 2006).

Brassica juncea, y especies del género *Brassica*, son especies de cultivo ampliamente estudiadas que pueden tolerar y acumular cantidades apreciables de Cr (Shahandeh & Hossner, 2000b; Han et al., 2004; Singh & Sinha, 2005). Esta especie ha sido protagonista de numerosos estudios de fitoextracción de metales pesados con la aplicación de diversos agentes quelantes, mostrando resultados prometedores fundamentalmente para la fitoextracción de Pb (Blaylock et al., 1997; Ebbs & Kochian, 1998; Wu et al., 2004; Haag-Kerwer et al., 1999). Las semillas de *B. juncea* utilizadas en el ensayo procedieron de una accesión catalogada como Nº 211000; Afghanistan (Badakhshan).

El género *Salix*, por su parte, posee diferentes especies arbóreas de rápido crecimiento capaces de extraer cantidades significativas de metales pesados de los suelos, principalmente de Cd y Zn (Hammer et al., 2003; Landberg & Greger, 1996; Meers et al., 2003, 2005b; Hemle et al., 2006). El uso de especies arbóreas en los procesos de fitoextracción se considera muy prometedor debido fundamentalmente a su elevada biomasa (Pulford & Watson, 2003). Las plantas de *Salix viminalis* utilizadas en el ensayo fueron desarrolladas a partir de esquejes recolectados en el área afectada por la explotación de sulfuros de Cu/Zn de Arinteiro, en Touro (A Coruña) (UTM 555215/4747965). Los lixiviados ácidos provocados por la explotación minera suponen altos contenidos metálicos en los suelos, principalmente de Cu y Zn (Pérez Otero, 1992), por lo que esta población puede considerarse adaptada a ambientes metalíferos.

La germinación de las semillas de *C. ladanifer* y *B. juncea* se llevó a cabo sobre semilleros en condiciones adecuadas de luz y humedad, mientras que los esquejes de *S. viminalis* se desarrollaron en cultivo hidropónico. Plántulas de *C. ladanifer* y *B. juncea* y esquejes de tamaño similar de *S. viminalis* fueron transplantados, tras un período de tiempo de aproximadamente un mes, a los sustratos de crecimiento preparados en macetas de plástico de 1,5 kg. En el caso de *S. viminalis* únicamente se dispuso de esquejes suficientes para completar las macetas preparadas con sustratos CONT y LC. En todos los casos se produjo una sustitución de los individuos muertos durante los primeros 10 días desde el transplante, obteniéndose finalmente de 9 a 18 réplicas por nivel de contaminación del sustrato (salvo en *S. viminalis*) y por especie. Todas las plantas crecieron durante 14 semanas bajo condiciones de luz y temperatura controladas, utilizando una cámara cerrada (12 h. luz / 25ºC), con una irrigación periódica con agua destilada para mantener el sustrato en condiciones adecuadas de humedad.

Tratamientos con agentes quelantes

Dos agentes quelantes diferentes, el ácido etilendiaminodisuccínico (EDDS) y el ácido picolínico (AP), fueron adicionados sobre los sustratos de las macetas durante las últimas dos semanas de crecimiento de las plantas para inducir la acumulación de Cr en el tejido vegetal.

El EDDS, un isómero del EDTA, posee una capacidad de complejación similar a éste o incluso mayor para determinados metales como el Cu (Meers et al., 2005), presentando, sin embargo, un tiempo de permanencia en el suelo mucho más reducido. Meers et al. (2008) demostraron que el EDDS se biodegrada siempre en un período inferior a 54 días, dependiendo del tipo de suelo y nivel de contaminación, y ello minimiza el lixiviado indeseado de metales pesados hacia las aguas subterráneas. Numerosos trabajos muestran al EDDS como una alternativa prometedora para su uso en procesos de fitoextracción inducida (Greman et al., 2003; Kos & Lestan, 2003; Luo et al., 2005; Meers et al., 2005; Tandy et al., 2004, 2006a,b).

El AP, por su parte, es un agente quelante hasta ahora poco utilizado en estudios de fitoextracción inducida (Tabla 1). Sin embargo, es habitualmente utilizado para formar complejos biológicamente asimilables de Cr (III), el picolinato de Cr, que es estable, eléctricamente neutro y lipofílico. En uno de los pocos trabajos existentes con AP, Simon et al. (2003) comprobaron como la adición de este agente quelante al suelo y la formación de picolinato de Cr durante el período de crecimiento de las plantas promueve no sólo la absorción de Cr por las raíces, sino también la translocación de este metal desde las raíces hacia la parte aérea en *Raphanus sativus* y *Brassica campestris*.

En función del agente quelante utilizado se llevaron a cabo un total de tres tratamientos diferentes: 0Q (Sin quelante), AP y EDDS, obteniéndose entre 3 y 8 réplicas de cada tratamiento para cada grupo de macetas de cada nivel de contaminación y especie de planta. Los agentes quelantes fueron adicionados en una disolución 2.5 mM (ajustada a pH 6.5 con ácido acético en el caso del EDDS) durante el riego, siendo sustituida por agua destilada en el caso del tratamiento 0Q. La concentración de las disoluciones quelantes (2.5 mM AP/EDDS) se asume como la máxima tolerable por las plantas, dado que la realización de pruebas previas sobre cultivos hidropónicos demostraron la toxicidad de altas concentraciones de ambos agentes quelantes. El protocolo de cada tratamiento consistió en la adición de una dosis de 50 ml de la disolución quelante (0Q/AP/EDDS) cada 5 días, hasta completar 4 dosis y una adición total de agente quelante de 0.32 mmoles kg^{-1} (4x0.08 mmoles kg^{-1}). En el momento de la aplicación de cada una de las dosis las macetas se mantuvieron en torno al 65% de su capacidad de campo, regando con 50 ml de agua destilada previamente a la adición de la disolución quelante y los dos días siguientes, y sin irrigación durante el tercer y cuarto día antes de la aplicación de la siguiente dosis.

Análisis de lixiviados, material vegetal y sustratos

En seis de las macetas de cada nivel de contaminación y especie se instaló en la base un sistema de recogida de lixiviados (Rhizosphere Research Products, Wageningen, The Netherlands) con el fin de extraer periódicamente muestras de disolución del suelo. Las muestras fueron obtenidas por succión con jeringuillas de 10 ml cada 4 semanas durante el

período de crecimiento de las plantas (excepto en el caso de *S. viminalis*) y al tercer día después de la aplicación de cada dosis de disolución quelante (0Q/AP/EDDS) (primer día sin riego), siempre tras un período mayor de 24 horas desde el último riego. En todas las muestras de disolución del sustrato se determinó la concentración de Cr mediante un equipo de absorción atómica con cámara de grafito (Perkin-Elmer 4110 ZL).

Las plantas fueron cosechadas a partir del 6º día después de la adición de la última dosis de quelante, separándolas en raíz, tallo y hojas y recopilando distintos parámetros de crecimiento como la longitud de tallos y raíces y el peso fresco de cada una de las partes. El lavado de hojas y tallos se realizó mediante chorro de agua del grifo y posterior inmersión en agua destilada. En el caso de las raíces el lavado se completó mediante el empleo de ultrasonidos en sesiones de 15 minutos hasta la completa limpieza del tejido. Todo el material vegetal lavado y secado en una estufa a 60 ºC fue pesado para determinar el peso seco y completar los datos de crecimiento. Posteriormente, fue triturado y digerido con una mezcla ácida de HNO_3+HCl en un digestor de calor. Debido a la escasa biomasa alcanzada por *C. ladanifer* sobre los sustratos de crecimiento preparados se decidió llevar a cabo una unión de todas las réplicas de esta especie para obtener el material suficiente para la realización del análisis. La determinación de Cr se llevó a cabo en la digestión mediante el empleo de un espectrofotómetro de absorción atómica de llama (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT).

Los sustratos fueron tamizados por una luz de malla de 2 mm y una alícuota fue molida en un molino de ágata. Sobre la muestra molida se procedió a determinar el contenido en Cr total mediante una digestión ácida (HNO_3+HCl) en horno microondas y posterior medición por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT). Sobre la fracción < 2mm se determinó el Cr potencialmente biodisponible para las plantas mediante la utilización de una disolución extractante de EDTA 0.02 M + CH_3COONH_4 0.5 M a pH 4.65 (Lakanen & Ervio, 1971; Ure et al., 1993) y posterior medición por espectrofotometría de absorción atómica de llama (Perkin-Elmer 1100B, Norwalk, CT).

Tratamiento estadístico

Todos los análisis estadísticos realizados en el ensayo fueron llevados a cabo mediante la utilización del programa SPSS 12.0, y se basaron en los análisis de varianza de un factor (ANOVA) y en la realización de test de t-student para muestras independientes, según el número de casos de las variables comparadas. El nivel de significación empleado fue de 0.05. La normalidad de los datos no se consideró, según los casos, un requisito imprescindible para la realización de estas pruebas paramétricas de acuerdo con Zar (1984), que afirma que los análisis de varianza suelen ser suficientemente robustos aunque no se cumpla la normalidad, siempre y cuando el número de muestras sea suficiente. Mediante el test “post-hoc” Scheffe se realizaron comparaciones múltiples de medias, y la cuantificación de las relaciones entre los

distintos parámetros analizados se llevó a cabo mediante un análisis de correlación con la comparación del coeficiente de correlación de Pearson ($P<0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los agentes quelantes sobre la movilidad y biodisponibilidad de cromo

La figura 2 representa la concentración de Cr alcanzada en la disolución del suelo con diferentes niveles de contaminación durante el período de tiempo en el que se llevó a cabo el experimento. La concentración de Cr en la disolución fue usualmente inferior a 2.8 μg l^{-1} cuando no se añadió sobre el sustrato ningún tipo de agente quelante (0Q), independientemente de la concentración de Cr total ($P<0.05$) (Figura 2). Este hecho pone de manifiesto la dominancia de formas de Cr poco lábiles y usualmente inmóviles en el lodo empleado como material contaminante. La aplicación de agentes quelantes (AP/EDDS) en la última etapa del ensayo (a partir del día 112) modificó, sin embargo, la solubilidad y movilidad del Cr dentro de los sustratos de crecimiento. El efecto encontrado fue significativamente diferente ($P<0.05$) en función del tipo de agente quelante utilizado (Figura 2).

La adición de AP provocó generalmente un ligero incremento de solubilidad de Cr, aunque no fue estadísticamente significativo ($P<0.05$). La concentración de Cr en la disolución de los sustratos contaminados (LC/MC) tras el tratamiento de AP mostró valores entre 0.5 y 118 μg l^{-1}, frente a valores entre 0.4 y 17.1 μg l^{-1} encontrados en 0Q. La aplicación de dosis sucesivas de AP no supuso un efecto acumulativo en la solubilidad del Cr, puesto que el incremento de Cr soluble tras las dosis 2, 3 o 4 no fue significativo ($P<0.05$). Ello supone una saturación del AP desde muy bajas dosis. El nivel de contaminación del sustrato no influyó de manera significativa ($P<0.05$) sobre la cantidad de Cr solubilizado por el AP, e incluso en sustratos LC se obtuvo frecuentemente una mayor solubilización de Cr tras la adición de las 4 dosis de AP (con un valor medio de 16.2 μg l^{-1} Cr) que en los sustratos MC (con un valor medio de 5.2 μg l^{-1} Cr). La mayor parte del Cr aportado por el lodo permaneció, por tanto, como formas no solubles dentro de la matriz del suelo, siendo despreciable el porcentaje de Cr solubilizado por el AP en los sustratos contaminados. Simon et al. (2003) llegaron a resultados similares al detectar un escaso efecto de la adición de AP sobre la movilización de Cr en suelos contaminados con lodos procedentes de la industria del cuero o lodos galvánicos, a pesar de provocar una fitotoxicidad y un incremento en la acumulación de Cr en plantas similar a la provocada por EDTA, con mayor poder solubilizante.

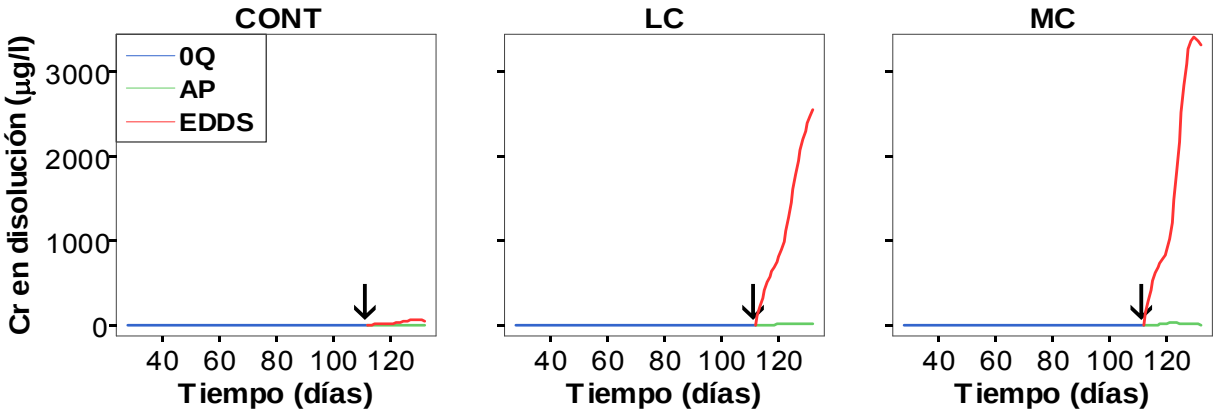

Figura 2.- Evolución de la concentración de Cr en la disolución de los sustratos de crecimiento con diferentes niveles de contaminación (CONT/LC/MC) durante el período de tiempo en el que se llevó a cabo el experimento. Las flechas indican el inicio del tratamiento con agentes quelantes (AP/EDDS).

La aplicación de las 4 dosis de EDDS sobre los sustratos contaminados supuso, al contrario que la adición de AP, un incremento de Cr soluble significativo ($P<0.05$), provocando concentraciones máximas de Cr en la disolución de hasta 6200 µg l^{-1}. La concentración media de Cr en la disolución de los sustratos contaminados fue más de 400-500 veces superior a los encontrados en 0Q. La adición de dosis sucesivas de EDDS supuso además en este caso un efecto acumulativo sobre la solubilización de Cr, de manera que se fue incrementando significativamente ($P<0.05$) con el número de dosis. La adición de la cuarta dosis provocó una concentración media de Cr en disolución de 2557 y de 3316 µg l^{-1} en los sustratos LC y MC, respectivamente, significativamente ($P<0.05$) superior a los 575 y 988 µg Cr l^{-1} encontrados, respectivamente, tras la adición de una única dosis, o a los 688 y 1216 µg Cr l^{-1} encontrados, respectivamente, tras la adición de la segunda dosis. La tercera dosis de EDDS supuso concentraciones de Cr en disolución intermedios, con valores medios de 1945 y 3100 µg l^{-1}, respectivamente. Este incremento de Cr soluble con el número de dosis de EDDS indica que no existe una saturación de la complejación de metales en el rango de quelante aplicado. El nivel de contaminación del sustrato influyó en este caso en la cantidad de Cr solubilizado por el EDDS, de manera que este tiende a incrementarse con el aumento de Cr total en el sustrato. La amplia variabilidad de los datos recolectados en los sustratos contaminados supuso, sin embargo, que las diferencias existentes entre los dos niveles de contaminación no resultasen estadísticamente significativas ($P<0.05$). La concentración de Cr solubilizado tras la adición de las 4 dosis de EDDS se incrementó desde valores entre 24 y 100 µg Cr l^{-1} en los sustratos CONT hasta valores entre 1300 y 5000 µg Cr l^{-1} en sustratos LC y entre 2600 y 4800 µg Cr l^{-1} en los sustratos MC, de lo que se deduce el gran poder solubilizante del EDDS y su escasa saturación a pesar del incremento del Cr añadido con el lodo. Meers et al. (2005), en uno de los

relativamente pocos trabajos que tratan la solubilización de Cr por parte del EDDS, no detectaron, sin embargo, un incremento significativo de Cr soluble en la disolución de sedimentos dragados contaminados tras la adición de EDDS, aunque sí de otros metales pesados. Las características del suelo en cada caso parecen influir, por tanto, en este aspecto.

Meers et al. (2005) definieron la eficiencia de un agente quelante como la concentración en mmoles de los metales pesados movilizados en la disolución del suelo por mmol de agente quelante añadido. El EDDS mostró una eficiencia media en la movilización de Cr en los sustratos preparados de 0.11, valor en torno a 290 veces superior al alcanzado por el AP (4 $*10^{-4}$). La movilidad de los metales pesados determina en gran medida su biodisponibilidad para las plantas y microorganismos, que toman elementos disueltos en la disolución del suelo (Kabata-Pendias & Pendias et al,. 1992). En este sentido, la correlación encontrada entre el Cr soluble y el Cr potencialmente biodisponible en los sustratos de crecimiento preparados en el ensayo fue ampliamente significativa (Coef. Correlación de Pearson de 0.88 ($P<0.01$)). En la figura 3 se representa la concentración de Cr potencialmente biodisponible (Cr_{EDTA}) obtenida para cada nivel de contaminación en función del tratamiento con agentes quelantes llevado a cabo. De acuerdo con la variación de Cr soluble, la fracción de Cr biodisponible varió significativamente ($P<0.05$) en función del tipo de quelante añadido (AP/EDDS) y del nivel de contaminación del sustrato (LC/MC).

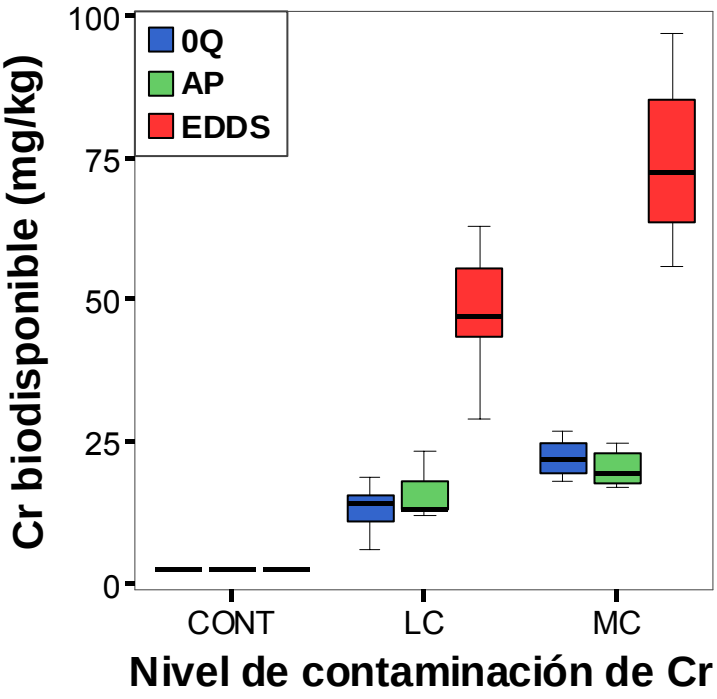

Figura 3.- Concentración de Cr potencialmente biodisponible (Cr_{EDTA}) en los sustratos de crecimiento de cada nivel de contaminación (CONT/LC/MC) en función del tratamiento con agentes quelantes llevado a cabo sobre ellos (0Q/AP/EDDS).

El AP, de manera similar a lo encontrado por Simon et al. (2003), no mostró un efecto significativo ($P<0.05$) en la concentración de Cr biodisponible de los sustratos contaminados, obteniéndose valores medios de 18 y 21.7 mg kg^{-1} para los sustratos LC y MC, respectivamente, frente a los 14.3 y 23.7 mg kg^{-1} encontrados, respectivamente, en los mismos sustratos sin tratamiento quelante (0Q). Las diferencias de Cr_{EDTA} entre LC y MC no fueron significativas ($P<0.05$), pero superaron en torno a 7 veces los valores obtenidos sobre sustratos no contaminados (CONT) (<5 mg kg^{-1}). El factor de extracción ((Cr_{EDTA}/Cr_{Total})*100) (Komárek et al., 2007) representa la cantidad relativa de Cr que puede ser extraída por la adición de un agente quelante. En el caso del AP, el factor de extracción se redujo de un 6% en los sustratos LC a menos de un 4% en los sustratos MC. Otros metales pesados presentes en el lodo contaminante, principalmente Pb, podrían competir además con el Cr por la formación de los complejos quelantes.

La adición de EDDS, al contrario que el AP, sí que incrementó significativamente ($P<0.05$) la fracción potencialmente biodisponible de Cr en los sustratos contaminados, con valores medios de 51.4 y de 74.2 mg kg^{-1} para los sustratos LC y MC, respectivamente. Estos valores suponen un incremento medio en torno a 3 veces los obtenidos sobre sustratos no tratados (0Q) (14.3 y 23.7 mg kg^{-1}, respectivamente). La concentración de Cr biodisponible se incrementó además significativamente ($P<0.05$) con el nivel de contaminación del sustrato de crecimiento. El factor de extracción se redujo en este caso de valores en torno al 17.1% en LC a valores de 12.4% en MC. Estos valores, a pesar de ser drásticamente superiores a los obtenidos con el tratamiento de AP, resultan bajos en comparación con la capacidad de extracción de Pb por EDTA, combinación en donde se han obtenido los mejores resultados (Tandy et al., 2004; Luo et al., 2005; Komárek et al., 2007). En este sentido, el EDTA puede llegar a extraer el 60% del Pb de un suelo contaminado (Komárek et al., 2007) debido a la elevada tendencia del Pb a formar complejos Pb-EDTA ($\log K_{Pb-EDTA} = 17.9$) (Martell et al., 1998; Orama et al., 2002). La eficiencia de extracción de los agentes quelantes depende mayoritariamente de la constante de estabilidad del complejo metálico formado (logK), pero también de la concentración del agente quelante y de los metales (Cr y otros metales competidores), del pH del suelo, de la degradabilidad del quelante, etc. (Nowack, 2002; Komárek et al., 2007).

Tolerancia al Cr y su bioacumulación en plantas

La toxicidad de los metales contaminantes supone generalmente un efecto negativo en la salud y en el desarrollo de las plantas, por lo que una mayor reducción del crecimiento en relación a los sustratos no contaminados (CONT) se relaciona con una menor tolerancia (Wilkins, 1978; Shu et al., 2002, Kidd et al., 2004; Kuzovkina et al., 2004; Watson et al., 2003; Dos Santos Utmazian et al., 2007). En este sentido, en la figura 4 se representan algunos de los parámetros de crecimiento de *C. ladanifer*, *B. juncea* y *S. viminalis* en función del nivel de contaminación del sustrato sobre el que crecieron, así como los valores medios de los índices

de tolerancia (TI) calculados como (biomasa aérea sustrato contaminado / biomasa aérea sustrato control) * 100, y que se exponen en la tabla 3.

Los resultados muestran que el desarrollo de *C. ladanifer* y *S. viminalis* fue afectado significativamente (P<0.05) por el contenido en Cr de los sustratos de crecimiento. *Cistus ladanifer* presentó un escaso desarrollo y graves síntomas de clorosis fundamentalmente en los individuos de los sustratos más contaminados. La biomasa de la parte aérea se redujo significativamente (P<0.05) desde valores medios por individuo de 523.3 mg en los sustratos no contaminados (CONT) hasta valores de 61.6 y 21.1 mg en los sustratos LC y MC, respectivamente (Figura 4). Los índices de tolerancia al Cr de *C. ladanifer* resultaron muy bajos en cualquiera de los niveles de contaminación estudiados, con valores medios siempre menores al 12% (Tabla 3). En el caso de *S. viminalis* sólo se estudió un nivel de contaminación (LC), y a pesar de que no se detectaron síntomas claros de clorosis o necrosis, la biomasa aérea por individuo se redujo desde valores medios de 3.6 g hasta valores medios de 2.6 g (Figura 4). El índice de tolerancia medio obtenido sobre LC fue en torno al 73% (Tabla 3), netamente superior al encontrado para *C. ladanifer*.

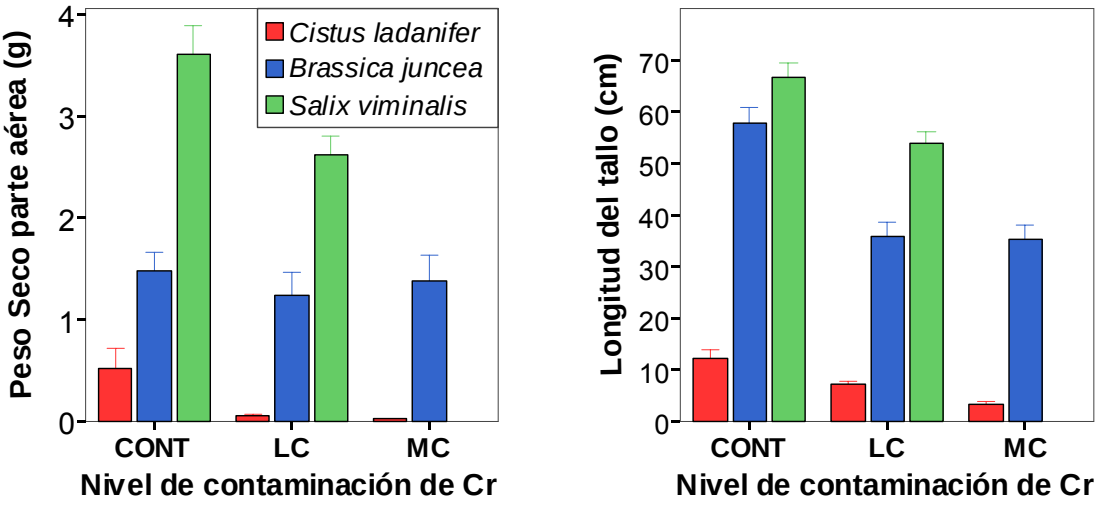

Figura 4.- Peso seco de la parte aérea y longitud del tallo de las especies estudiadas en función del nivel de contaminación en Cr del sustrato de crecimiento (CONT/LC/MC).

Tabla 3 – Índices de tolerancia (TI) de las especies estudiadas sobre diferentes niveles de contaminación en Cr de los sustratos de crecimiento. TI= (biomasa aérea sustrato contaminado / biomasa aérea sustrato control) * 100

	CONT	LC	MC
C. ladanifer	100%	11.7%	4%
B. juncea	100%	83.5%	92.5%
S. viminalis	100%	72.7%	-

Contrariamente, en *B. juncea* no se observó una reducción significativa ($P<0.05$) de la biomasa aérea con el incremento del contenido en Cr de los sustratos, aunque sí se detectó una reducción significativa ($P<0.05$) en la longitud del tallo (Figura 4). Los valores medios por individuo de biomasa aérea fueron de 1.5, 1.2 y 1.4 g en sustratos CONT, LC y MC, respectivamente. La tolerancia al Cr de *B. juncea* resultó, por tanto, muy elevada dentro del rango de contaminación de Cr estudiado, y se alcanzaron índices medios de tolerancia en torno al 84 y 93% sobre sustratos LC y MC, respectivamente (Tabla 3). *Brassica juncea*, y en menor medida *S. viminalis* (pero no *C. ladanifer)*, poseen, por tanto, valores de índices de tolerancia superiores al 50%, excediendo, según Chang et al. (1992), la producción de biomasa mínima deseada por las plantas que crecen sobre suelos contaminados.

La adición de agentes quelantes (AP/EDDS) sobre los sustratos de crecimiento, tuvo, por otra parte, efectos tóxicos visibles inmediatos sobre las plantas en crecimiento. La movilización de metales pesados tóxicos hacia la disolución del suelo y la propia toxicidad del agente quelante libre deben justificar este hecho (Vassil et al., 1998). En este sentido, se ha comprobado que la toxicidad de un agente quelante añadido durante largo tiempo puede reducir la biomasa de la planta, decreciendo la cantidad de metal extraído en un proceso de fitoextracción inducida (Chen & Cutright, 2001). En nuestro trabajo, la adición de los agentes quelantes (AP/EDDS) abarcó únicamente un período total de 4 semanas en la última etapa del experimento, por lo que no se encontró un efecto directo ($P<0.05$) sobre los parámetros de crecimiento de las plantas. Sí se observó, sin embargo, graves efectos sobre su estado de salud, ocasionándoles frecuentemente la muerte. En los individuos de *C. ladanifer* se observaron síntomas visibles de clorosis y necrosis en las hojas basales de mayor edad, que se fueron extendiendo con la adición de nuevas dosis de quelante. Tras la adición de la segunda dosis de EDDS murieron el 33% de los individuos de *C. ladanifer* que crecían en suelos MC, mientras que la adición de la segunda dosis de AP sobre estos sustratos provocó el 50% de muertes en *C. ladanifer*. La mayor parte de los individuos de *B. juncea* mostraron síntomas de decaimiento y marchitamiento. Después de la adición de la segunda dosis de EDDS habían muerto el 50 y el 40% de los individuos de *B. juncea* creciendo sobre sustratos LC y MC, respectivamente. La adición de la segunda dosis de AP desencadenó la muerte de un 25% de los individuos creciendo sobre los sustratos MC. De manera similar, los individuos de *S. viminalis* presentaron síntomas de necrosis, en este caso localizada habitualmente en los ápices y en los márgenes de las hojas. A pesar de ello, no existieron casos de muerte en *S. viminalis*. En distintos trabajos realizados sobre maíz, álamos o en la propia *B. juncea* con otros tipos de quelantes como EDTA o DTPA, se muestran síntomas semejantes a los descritos con anterioridad (Komárek et al., 2007; Wu et al., 2004).

En la tabla 4 se representan los rangos de concentración de Cr encontrados en raíces y parte aérea de *C. ladanifer*, *B. juncea* y *S. viminalis* en los sustratos de crecimiento con diferentes niveles de contaminación para cada uno de los tratamientos con agentes quelantes llevados a cabo (0Q/AP/EDDS).

La acumulación de Cr en los tejidos vegetales difirió entre las especies estudiadas ($P<0.05$), encontrándose en los sustratos no tratados con quelantes (0Q) una concentración máxima de Cr en la raíz de *C. ladanifer* creciendo sobre sustratos MC (357 mg kg^{-1}), mientras que las concentraciones más bajas se obtuvieron en las raíces de *B. juncea*, con concentraciones en torno a 10-14 mg Cr kg^{-1} (Tabla 4). En el caso del Cr acumulado en la parte aérea, tanto *C. ladanifer* como *B. juncea* alcanzaron las concentraciones máximas, con valores de hasta 71 mg Cr kg^{-1} en los sustratos MC. *Salix viminalis* no superó los 305 y los 30 mg Cr kg^{-1} en la raíz y en la parte aérea, respectivamente, aunque para esta especie no se dispone de datos en sustratos MC. La acumulación de Cr en los tejidos vegetales tendió a incrementarse con el nivel de contaminación del sustrato de crecimiento, aunque usualmente de manera no significativa ($P<0.05$), principalmente en el caso de *B. juncea*. Esta escasa influencia del nivel de contaminación del sustrato de crecimiento sobre la acumulación de Cr en las plantas podría explicarse por la pobre absorción y translocación de Cr y por la escasa biodisponibilidad de este metal en los sustratos contaminados sin tratamiento con agentes quelantes (0Q), a pesar del incremento de la concentración de Cr total. En cualquier caso, la acumulación de Cr se acentuó principalmente en *C. ladanifer* creciendo sobre sustratos MC, de manera que la concentración de Cr en los tejidos vegetales fue en torno a 3 veces superior a la encontrada sobre los sustratos no contaminados (CONT).

Todas las especies estudiadas presentaron concentraciones de Cr relativamente elevadas en comparación con los resultados encontrados en otros trabajos y sobre otras especies de plantas creciendo sobre suelos contaminados. Así por ejemplo, la hiperacumuladora de Ni *Alyssum serpyllifolium* alcanzó concentraciones medias de Cr en la parte aérea inferiores a 20 mg kg^{-1} creciendo sobre escombreras de mina (aprox. 280 mg Cr kg^{-1}) (Kidd & Monterroso, 2005). Hsiao et al. (2007) encontró en *B. juncea* una concentración media de Cr en la parte aérea en torno a 35 mg kg^{-1} sobre suelos serpentiníticos (3100 mg Cr kg^{-1}). También se ha demostrado que algunos miembros de la familia *Brassicaceae* acumulan usualmente mayores cantidades de Cr que otras especies, aunque raramente exceden los 10 mg kg^{-1} (Kamburova & Rankov, 1995; Lahouti & Peterson, 1979). Parece, por tanto, que las formas de Cr existentes en los suelos deben resultar determinantes en los resultados encontrados en cada caso.

Tabla 4.- Rangos de concentración de Cr (mg kg^{-1}) en raíces y parte aérea de las tres especies estudiadas creciendo sobre sustratos con diferentes niveles de contaminación y tras la ejecución de los distintos tratamientos con agentes quelantes (0Q/AP/EDDS).

			CONT	LC	MC
Cistus ladanifer	**0Q**	Raíz	117	40	357
		Parte aérea	25	27	71
	AP	Raíz	129	173	265
		Parte aérea	29	11	58
	EDDS	Raíz	16	260	372
		Parte aérea	78	120	161
Brassica juncea	**0Q**	Raíz	14	13	10
		Parte aérea	37 – 46	16 – 40	22 – 71
	AP	Raíz	-	11	15 – 26
		Parte aérea	24 – 64	41 – 103	33 – 258
	EDDS	Raíz	6	7 – 19	17 – 25
		Parte aérea	14 – 26	52 – 183	149 – 1014
Salix viminalis	**0Q**	Raíz	51 – 101	81 – 305	-
		Parte aérea	12 – 15	16 – 30	-
	AP	Raíz	80 – 177	174 – 329	-
		Parte aérea	12 – 25	14 – 34	-
	EDDS	Raíz	70 – 172	141 – 1277	-
		Parte aérea	11 – 27	26 - 46	-

Los tratamientos llevados a cabo con agentes quelantes (AP/EDDS) sobre los sustratos de crecimiento incrementaron generalmente, en mayor o menor grado, la acumulación de Cr en los tejidos vegetales. No obstante, su efecto fue variable, con amplias diferencias de acumulación de Cr en función del individuo analizado (Tabla 4). Esta variabilidad puede ser atribuible a la diferente infiltración del agente quelante adicionado sobre la superficie de las macetas, y evitó, en ocasiones, que el incremento de Cr detectado en las plantas fuera estadísticamente significativo ($P<0.05$).

El efecto de la adición de AP sobre la acumulación de Cr fue generalmente pequeño en todas las especies estudiadas. Su escasa influencia sobre las formas de Cr soluble y biodisponible en los sustratos derivó en que las concentraciones de Cr en la raíz y en la parte aérea, principalmente de *C. ladanifer* y *S. viminalis*, mostraran valores similares o muy ligeramente superiores a los encontrados sobre los sustratos no tratados (0Q), independientemente del nivel de contaminación (Tabla 4). Las concentraciones máximas de Cr encontradas en la raíz tras el tratamiento de AP fueron de 265 y 329 mg kg^{-1} para *C. ladanifer* y *S. viminalis*, respectivamente, mientras que las concentraciones máximas de Cr en la parte aérea no superaron en ningún caso los valores de 58 y 46 mg kg^{-1}, respectivamente. Una excepción a la tendencia general en *C. ladanifer* y *S. viminalis* se encontró en la raíz de *C. ladanifer* sobre sustratos LC, en donde la concentración de Cr se incrementó hasta 4 veces con

la aplicación de AP, lo que se explica más bien por la baja concentración obtenida en los análisis sobre raíces de sustratos no tratados (0Q). El decrecimiento del Cr acumulado detectado en algunas plantas de estas especies tras el tratamiento de AP podría atribuirse, por otra parte, a la competición del AP con los propios agentes quelantes orgánicos naturales exudados que causan una difusión de Cr hacia el sistema radicular (Robinson et al., 1999). *Brassica juncea*, al contrario que *C. ladanifer* y *S. viminalis*, parece mostrar frecuentemente un incremento sustancial del Cr acumulado en la parte aérea tras el tratamiento de AP, aunque prácticamente no se encontraron diferencias en el Cr acumulado en la raíz. Las concentraciones máximas de Cr en la parte aérea de *B. juncea* tras el tratamiento de AP se incrementaron hasta valores de 103 y 258 mg kg^{-1} en sustratos LC y MC, respectivamente, mientras que las concentraciones máximas de Cr en la raíz no superaron en ningún caso los 26 mg Cr kg^{-1}.

Simon et al. (2001) encontró resultados similares a estos últimos y concluyó que la adición de AP en suelos contaminados con sales inorgánicas de Cr promueve la absorción y translocación de este metal, con valores máximos de Cr en *Raphanus* de 479 mg kg^{-1} en raíz y de 51.1 mg kg^{-1} en hoja. Sin embargo, la adición de sales de Cr para contaminar el suelo permite la existencia de formas de Cr más lábiles y solubles. En una comparación del efecto del AP en la acumulación de Cr en plantas sobre suelos contaminados con sales inorgánicas de Cr ($CrCl_3$), con lodos de una industria del cuero y con lodos galvánicos, Simon et al. (2003) concluyeron que la aplicación de AP únicamente provocaba un incremento en la absorción y translocación de Cr en los suelos contaminados con sales de Cr (similar a la de EDTA). El efecto del AP se redujo considerablemente sobre suelos contaminados con lodos procedentes de una industria del cuero, en donde el incremento de Cr en la raíz se produjo únicamente tras repetidas adiciones de AP y la acumulación de Cr en la parte aérea fue siempre similar a la de los suelos control (aunque sí se incrementó la de Cu y Mn). El efecto del AP fue prácticamente indetectable sobre suelos contaminados con lodos galvánicos. La tasa de la formación de complejos (Picolinato de Cr) se debe relacionar directamente, por tanto, con las formas y la concentración de Cr existente y con las características del propio suelo (pH, CIC, etc.), de manera que en muchos casos la aplicación de AP no tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la fracción soluble/biodisponible del suelo y sobre la acumulación en los tejidos vegetales (Simon et al., 2003). En el presente trabajo, no obstante, bajo una contaminación del suelo con lodo procedente de una industria del cuero, se refleja la tendencia de *B. juncea* a la acumulación de Cr y se detecta un incremento de su concentración en la parte aérea.

El tratamiento de EDDS sobre los sustratos de crecimiento mostró un mayor efecto sobre la acumulación de Cr en los tejidos vegetales de las especies estudiadas. Tanto *C. ladanifer* como *S. viminalis* presentaron usualmente un fuerte incremento de Cr en las raíces tras el tratamiento de EDDS. La concentración de Cr en raíces de *S. viminalis* en suelos LC se

incrementó hasta valores de 1277 mg kg^{-1} (Tabla 4), con un incremento medio en torno a 2.5 veces respecto a los valores encontrados sobre sustratos no tratados (81 - 305 mg Cr kg^{-1}). Así mismo, el incremento de Cr en las raíces de *C. ladanifer* en LC fue de 6 veces respecto a la encontrada sin tratamiento de quelante (0Q) (40 mg kg^{-1}), mostrando una concentración media de 260 mg kg^{-1}. En MC, contrariamente, prácticamente no hubo incremento de Cr en la raíz de *C. ladanifer*, con valores medios de 372 mg Cr kg^{-1} frente a los 357 mg kg^{-1} encontrados en 0Q. El incremento de Cr en la parte aérea de estas dos especies tras el tratamiento de EDDS fue también acusado, principalmente en *C. ladanifer*, donde se produjo un incremento de 2-4 veces, obteniéndose valores de Cr medios de 120 y 161 mg kg^{-1} en sustratos LC y MC, respectivamente (Tabla 4). La concentración máxima de Cr encontrada en la parte aérea de *S. viminalis* en sustratos contaminados no superó, sin embargo, los 46 mg kg^{-1}. En el caso de *B. juncea*, a diferencia de *C. ladanifer* y *S. viminalis*, la concentración de Cr en las raíces sobre sustratos contaminados tratados con EDDS fueron ligeramente superiores y usualmente muy similares a las encontradas sobre sustratos no tratados con quelantes (0Q), con valores máximos en torno a 19 y 25 mg kg^{-1} sobre sustratos LC y MC, respectivamente (Tabla 4). Sin embargo, en esta especie el incremento de Cr en la parte aérea tendió a ser mucho más acusado, debido a una elevada translocación del Cr absorbido. La concentración de Cr en la parte aérea de *B. juncea* mostró valores entre 52-183 y 149-1014 mg kg^{-1} en los sustratos LC y MC, respectivamente (Tabla 4). El Cr acumulado en la parte aérea de algunos individuos de *B. juncea* en MC tras la adición de EDDS llegó a incrementarse más de 14 veces, pudiendo llegar a mostrar un nivel de acumulación y extracción de Cr similar a la de una hiperacumuladora (>1000 mg kg^{-1}) (Lasat, 2002). Esto indica que el tratamiento de EDDS incrementó tanto la absorción como la translocación de Cr hacia la parte aérea de *B. juncea*. Existen algunas referencias que muestran efectos similares del EDTA sobre la movilización y translocación de metales en plantas (Myttenaere & Mousny, 1974; Athalye et al., 1995; Shahandeh & Hossner, 2000b; Han et al., 2004b), aunque también en este caso se sugiere que el efecto del agente quelante empleado se debe relacionar con las fuentes de Cr presentes en el suelo (Han et al., 2004b). En un estudio sobre *B. juncea*, Han et al., (2004b), demuestran además que esta especie incrementa rápidamente la absorción de Cr cuando las concentraciones de Cr en el suelo son elevadas, y encontraron concentraciones tan altas como 2000-3000 y 3000-3300 mg Cr kg^{-1} en hojas y raíces, respectivamente. Los resultados encontrados sobre *B. juncea* pueden considerarse, por tanto, ampliamente prometedores.

El incremento de la acumulación de Cr en los tejidos vegetales en función del tratamiento con agentes quelantes (AP/EDDS) se relaciona, en cualquier caso, con el efecto provocado sobre las formas solubles y biodisponibles de Cr en los sustratos de crecimiento contaminados. La aplicación de EDDS, pero no la de AP, provocó incrementos significativos ($P<0.05$) en la fracción soluble y biodisponible de Cr en los sustratos contaminados, lo que supuso habitualmente un mayor incremento de la acumulación de Cr en los tejidos vegetales. La correlación entre la concentración de Cr potencialmente biodisponible y la concentración de Cr

en los tejidos vegetales varió entre las distintas especies estudiadas, de manera que la fisiología de cada planta y la bioquímica de la rizosfera puede alterar la relación entre ambas variables (Basta et al., 2005). El coeficiente de correlación de Pearson entre la concentración de Cr potencialmente biodisponible y la concentración de Cr en los tejidos vegetales no fue significativo ($P<0.05$) en el caso de *S. viminalis*, fue significativo ($P<0.05$) en el caso de la parte aérea de *B. juncea* ($r= 0.46$), y altamente significativo ($P<0.01$) para la parte aérea de *C. ladanifer* ($r= 0.83$).

Eficiencia del proceso de fitoextracción

La eficiencia del proceso de fitoextracción de un metal depende en gran medida de que exista una translocación de cantidades sustanciales del metal asimilado por las raíces hacia las partes cosechables de las plantas (Zayed & Terry, 2003; Marques et al., 2006). Este hecho no se encuentra habitualmente en el caso del Cr, que suele acumularse mayoritariamente en las raíces (Cary et al., 1977a; Chatterjee & Chatterjee, 2000; Kamburova & Rankov, 1995; Lahouti & Peterson, 1979). Calheiros et al. (2007), por ejemplo, determinó una concentración de Cr en *Phragmites australis* que varió entre 1647 y 4825 mg kg^{-1} en los rizomas, entre 109 y 627 mg kg^{-1} en las hojas y entre 369 y 883 mg kg^{-1} en los tallos. Una acumulación preferencial del Cr en la raíz fue encontrada también en *Eichhornia crassipes* (5000-6000 mg Cr kg^{-1} en raíz), *Zea mays* (2538 mg Cr kg^{-1} en raíz y 611 mg Cr kg^{-1} en hojas) o *Alternanthera sessilis* (1017 mg Cr kg^{-1} en raíz y 201 mg Cr kg^{-1} en hojas) sobre disoluciones nutritivas con dicromato potásico (Lytle et al., 1998; Sharma et al., 2003; Sinha et al., 2002).

Cistus ladanifer y *S. viminalis* mostraron en el presente trabajo el comportamiento habitual de las especies vegetales hacia el Cr, con una restricción de la translocación y una acumulación preferencial en las raíces independientemente del tratamiento con agentes quelantes (AP/EDDS). Estas especies muestran, por tanto, una estrategia de tolerancia de exclusión con valores de IT en todos los individuos < 1, y habitualmente < 0.5 (Tabla 5). La concentración media de Cr en la raíz de *S. viminalis* fue en todos los casos entre 4 y 12 veces superior a la concentración en la parte aérea, mientras que en el caso de *C. ladanifer* se encontraron usualmente valores entre 1.5 y 15 veces superior en la raíz (con excepción de los individuos de sustrato CONT con tratamiento de EDDS). La baja translocación en estas especies provocó una baja bioacumulación de Cr en la parte aérea, mostrando valores de IB sobre los sustratos contaminados siempre inferiores a 3 (Tabla 5). Estos resultados reflejan que estas dos especies no son, a priori, buenas candidatas para su uso en procesos de fitoextracción de Cr.

Brassica juncea, contrariamente, mostró una translocación efectiva del Cr asimilado por las raíces hacia la parte aérea en los sustratos contaminados (IT>1) (Tabla 5), existiendo mayores concentraciones en la parte aérea que en raíces, lo que supone la existencia de una estrategia de acumulación (Baker, 1981). La acumulación de Cr en *B. juncea* fue demostrada en algunas

ocasiones (Raskin et al., 1994; Salt et al., 1995), aunque las diversas formas en que el Cr puede ser añadido al suelo y los diferentes procesos que puede sufrir, como oxidación, reducción, adsorción, complejación y precipitación, así como permanecer en disolución (Fendorf, 1995), pueden provocar resultados diferentes, con una mayor acumulación de Cr en la raíz (Bluskov et al., 2005; Han et al., 2004b; Hsiao et al., 2007). La translocación de Cr en *B. juncea* se vio favorecida significativamente ($P<0.05$), en adición, por el tratamiento de EDDS, que provocó un incremento medio de IT que llega a ser de casi 10 veces en sustratos MC (Tabla 5). La concentración media de Cr en la parte aérea de *B. juncea* llegó a superar hasta en 25 veces la concentración alcanzada en raíz sobre sustratos MC tratados con EDDS, y para el resto de sustratos y tratamientos mantuvo valores medios en la parte aérea entre 4 y 6 veces superior. El incremento de la translocación de Cr desde las raíces hacia la parte aérea con la adición de EDDS generó habitualmente un aumento de los índices de bioacumulación encontrados sobre los sustratos contaminados, con valores máximos de acumulación en sustratos MC (IB= 7.3) en torno a 4 veces superior a los encontrados con tratamiento 0Q. La elevada translocación y bioacumulación de Cr en MC tras el tratamiento con EDDS generó concentraciones de Cr máximas en la parte aérea de *B. juncea* de más de 1000 mg kg^{-1}, lo que la convierte en una buena candidata para la fitoextracción inducida de Cr.

La acumulación de metales en los tejidos aéreos como formas no tóxicas se baraja en ocasiones como una forma de tolerancia más eficaz en sustratos contaminados (Boyd & Martens, 1992; Macnair, 2003). Autores como Baker & Walker (1990) sugieren la posibilidad de que la tolerancia hacia los metales y la acumulación de esos metales en la parte aérea estén

Tabla 5.- Valores medios de los índices de absorción (IA= $[Cr_{Raíz}]/[Cr_{Suelo}]_{EDTA}$), translocación (IT= $[Cr_{Parte\ aérea}]/[Cr_{Raíz}]$) y bioacumulación (IB= $[Cr_{Parte\ aérea}]/[Cr_{Suelo}]_{EDTA}$) de las especies estudiadas en función del nivel de contaminación del sustrato (CONT/LC/MC) y del tratamiento con agentes quelantes (0Q/AP/EDDS).

		CONT			LC			MC		
		IA	**IT**	**IB**	**IA**	**IT**	**IB**	**IA**	**IT**	**IB**
Cistus ladanifer	**0Q**	47	0.2	10	2	0.7	1	13	0.2	3
	AP	51	0.2	12	7	0.1	0.5	11	0.2	2
	EDDS	6	5	31	4	0.5	2	5	0.4	2
Brassica juncea	**0Q**	5.6	-	16	0.9	3	2.5	0.5	2.6	1.8
	AP	-	-	16	0.8	-	6.6	1.2	1.6	8
	EDDS	-	4.2	8.9	0.5	6.2	3.2	0.3	25	7.3
Salix viminalis	**0Q**	23	0.2	5.8	12	0.1	1.5	-	-	-
	AP	43	0.1	9.4	9.7	0.1	1.9	-	-	-
	EDDS	69	0.1	11	17	0.1	0.8	-	-	-

funcionalmente relacionados, y los resultados de acumulación de Cr encontrados en este trabajo sobre *C. ladanifer*, *B. juncea* y *S. viminalis* parecen de acuerdo con esta teoría. No obstante, parece claro que no debe existir un patrón de respuesta universal, y diferentes especies y genotipos pueden variar en la naturaleza de su respuesta a un metal y en la expresión de tolerancia a diferentes metales (Baker & Walter, 1990).

Además de la translocación y bioacumulación de Cr, la biomasa aérea alcanzada por la planta determina en última instancia la cantidad total de Cr extraído del sustrato contaminado, y por tanto es un aspecto determinante en el éxito de la fitoextracción (McGrath & Zhao, 2003). En este sentido, la cantidad de Cr extraído por *C. ladanifer* no sólo estuvo limitado por la restricción de la translocación del Cr hacia la parte aérea, sino también por la baja tolerancia al Cr y la escasa producción de biomasa sobre los sustratos contaminados. Este hecho provocó incluso una reducción del Cr extraído por la parte aérea con el nivel de contaminación, con valores de extracción por individuo hasta 10 veces inferiores en MC (10 µg) en relación a los valores máximos de fitoextracción encontrados en sustratos no contaminados (107 µg) (Tabla 6). *Salix viminalis* presentó una mayor tolerancia al Cr y una mayor producción de biomasa sobre los sustratos contaminados, pero la acumulación preferencial del Cr en las raíces y la restricción de la translocación del Cr hacia la parte aérea limitó también el proceso de fitoextracción. La cantidad de Cr extraído por la parte aérea de *S. viminalis* en los sustratos contaminados fue, no obstante, significativamente ($P<0.05$) superior a la alcanzada por *C. ladanifer*, con una extracción máxima por individuo en sustratos MC tratados con EDDS en torno a 108 µg (Tabla 6). A pesar de que en *S. viminalis* no existe una translocación efectiva de Cr desde las raíces hacia la parte aérea, la adición de EDDS indujo habitualmente una elevada absorción de Cr desde el suelo hacia las raíces, que llegaron a alcanzar concentraciones de Cr de hasta 1277 mg kg^{-1} en sustratos MC (Tabla 4). Cuando existe una acumulación de cantidades apreciables de metal en las raíces de *Salix,* Dickinson & Pulford (2005) proponen la posibilidad de retirar la raíz al final del proceso de fitoextracción para alcanzar una mayor cantidad de metal extraído. Estos autores estudiaron el caso del Cd y llegaron a la conclusión de que, dado que las raíces de *Salix* suponen entre el 33-58% de la biomasa total (Rytter, 2001), el cosechado adicional de la raíz podría suponer una extracción de al menos un 30% más de Cd (Perttu, 2002) y reducir la concentración del suelo en 5 mg kg^{-1} en 13.5 años. En el caso del Cr, la cantidad extraída por las raíces de *S. viminalis* tras la adición de EDDS sobre sustratos MC supone entre el 51-85% del total de Cr extraído por la planta (Tabla 6), por lo que la posibilidad del cosechado de la raíz en la etapa final del proceso de fitoextracción debe considerarse como una opción atractiva.

Tabla 6.- Rangos de Cr extraído (µg/ individuo) en las raíces (R) y en la parte aérea (P.a.) de las especies estudiadas tras las 16 semanas de crecimiento en función del nivel de contaminación del sustrato de crecimiento y del tratamiento con agentes quelantes llevado a cabo sobre ellos.

		CONT		LC		MC	
		R	**P.a.**	**R**	**P.a.**	**R**	**P.a.**
Cistus ladanifer	0Q	31.9	48.2	0.7	3.9	27.4	8.5
	AP	107	76.8	2.2	2.4	2.1	5.3
	EDDS	1.3	**107**	10.5	45.1	3.6	10.1
Brassica juncea	0Q	0.9	54.9 - 90.9	0.91	30.5 – 38.8	0.9	28.4 - 36.9
	AP	-	37.8 – 58.0	2	26.1 – 66.5	0.9 - 2.3	26.3 - 27.2
	EDDS	0.6	35.9 - 42.4	1.9 - 2.6	43.2 - **115**	0.6 - 1.5	61.3 - **249**
Salix viminalis	0Q	48.4 – 83.1	63.6 – 69.2	71 – 200	47.7 - 72.5	.	.
	AP	46.2 – 237	47.0 - 78.7	87.5 – 185	43.8 - 74.3	.	.
	EDDS	58.6 - 140	43.9 - 75.1	49.3 – **613**	47.0 - **108**	.	.

Brassica juncea presentó tanto una elevada translocación y acumulación de Cr en la parte aérea como una elevada tolerancia y producción de biomasa dentro del rango de contaminación estudiado (aunque entre 3 y 4 veces menor que la de *S. viminalis*). En estas circunstancias, los individuos de *B. juncea* mostraron una fitoextracción máxima de Cr en la parte aérea tras el tratamiento de EDDS de hasta 115 µg en sustratos LC y de hasta 249 µg en sustratos MC. Se debe considerar, en adición, que *B. juncea* es una especie ampliamente estudiada genéticamente y existen diferentes modificaciones genéticas que pueden incrementar la acumulación de Cr en su parte aérea en más de 2.5 veces (Wangeline et al., 2004; Bennett et al., 2003), lo que podría emplearse para incrementar el rendimiento del proceso. Esta especie, por tanto, presenta resultados prometedores para su uso potencial en técnicas de fitoextracción inducida de Cr mediante la adición de EDDS.

4. CONCLUSIONES

La adición de agentes quelantes (AP/EDDS) sobre los sustratos de crecimiento modificó la solubilidad y biodisponibilidad del Cr, aunque la eficiencia de movilización de Cr fue significativamente ($P<0.05$) diferente entre el AP y el EDDS. El AP provocó un ligero incremento, no significativo ($P<0.05$), del Cr soluble y del Cr potencialmente biodisponible, ambos directamente correlacionados. La adición de EDDS supuso, por el contrario, un incremento significativo ($P<0.05$) del Cr soluble y del Cr potencialmente biodisponible, detectándose además un efecto acumulativo sobre el Cr soluble con el número de dosis añadidas.

Cistus ladanifer, *B. juncea* y *S. viminalis* mostraron diferencias de tolerancia hacia los elevados niveles de Cr en el sustrato de crecimiento. *Cistus ladanifer* mostró una escasa tolerancia, con una reducción significativa ($P<0.05$) en su crecimiento en los sustratos contaminados y un índice de tolerancia siempre inferior al 12%. *Salix viminalis* presentó una tolerancia al Cr netamente superior, con un índice de tolerancia del 73% en sustratos LC,

aunque existió igualmente una reducción significativa (P<0.05) del crecimiento con el incremento del nivel de contaminación. *Brassica juncea* fue la especie vegetal con el mayor grado de tolerancia hacia el Cr y su crecimiento no pareció verse afectado significativamente (P<0.05) por el contenido en Cr del sustrato, mostrando unos índices de tolerancia del 84 y 93% en sustratos LC y MC respectivamente.

El efecto de los agentes quelantes (AP/EDDS) sobre la acumulación del Cr en los tejidos vegetales fue reflejo, en mayor o menor grado, de su efecto sobre las formas de Cr (soluble/biodisponible) en los sustratos de crecimiento. El efecto del AP sobre la absorción, translocación y bioacumulación de Cr de las especies estudiadas no fue significativo (P<0.05) en los sustratos contaminados. La adición de EDDS, por el contrario, afectó generalmente de manera significativa (P<0.05) a la acumulación de Cr por las raíces y por la parte aérea de las plantas. El incremento de Cr se acentuó generalmente en las raíces de *C. ladanifer* y *S. viminalis*, de acuerdo con su estrategia de exclusión, mientras que en el caso de *B. juncea*, a pesar de encontrarse una amplia variabilidad de resultados, el mayor incremento de concentración de Cr fue en la parte aérea. Los valores máximos de Cr en la parte aérea de *B. juncea* sobre sustratos MC fueron de hasta 1014 mg kg^{-1}, un nivel de acumulación de una hiperacumuladora (>1000 mg kg^{-1}).

El carácter exclusor de *C. ladanifer* y *S. viminalis*, con una restricción de la translocación del Cr absorbido hacia la parte aérea (IT< 1) independientemente de la adición de AP o EDDS, limita su utilización en procesos de fitoextracción. A pesar de ello, la adición de EDDS indujo habitualmente una elevada absorción de Cr desde el suelo hacia las raíces en *S. viminalis,* por lo que acumula en este tejido una cantidad importante de Cr debido también a su elevada biomasa. Ello sugiere que la posibilidad del cosechado de la raíz de *S. viminalis* en la etapa final del proceso de fitoextracción de Cr pueda considerarse como una opción para un proceso de fitoextracción exitoso. *Brassica juncea* presentó, al contrario que *C. ladanifer* y *S. viminalis*, una estrategia de acumulación, con una translocación efectiva del Cr absorbido por las raíces hacia la parte aérea (IT> 1), que fue incrementada, en adición, con el tratamiento de EDDS sobre los sustratos de crecimiento hasta niveles de acumulación de una hiperacumuladora (>1000 mg kg^{-1} en parte aérea). Estos resultados demuestran que la combinación del cultivo de *B. juncea* y la adición de EDDS sobre sustratos contaminados puede llegar a ser apropiada para la fitoextracción inducida de Cr.

5. REFERENCIAS

Adriano, D.C., 1986. “Trace elements in the terrestrial environment”. Berlin, Heidelberg, Germany: Springer.

Adriano, D.C., 2001. “Trace Elements in the Terrestrial Environments. Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals”. 2nd Edition. Springer-Verlag. New York.

Alados, C. L., Navarro, T., Cabezudo, B., 1999. “Tolerance assessment of *Cistus ladanifer* to serpentine soils by developmental stability analysis”. Plant Ecology, 143: 51–66.

Alloway, B.J., 1991. “Heavy Metals in Soils”. Blackie and Son Ltd., London, UK.

Athalye, V.V., Ramachandran, V., D’Souza, T.J., 1995. “Influence of chelating agents on plant uptake of ^{51}Cr, ^{210}Pb and ^{210}Po”. Environmental Pollution, 89: 47–53.

Audet, P. & Charest, C., 2007. “Heavy metal phytoremediation from a metal-analytical perspective”. Environmental Pollution, 147: 231–237.

Baker, A.J.M. & Walker, P.L., 1990. “Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants”. En: Shaw, A.J., (ed.). “Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects”. pp. 155-177. CRC Press, Boca Raton.

Baker, A.J.M., 1981. “Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to trace metals”. Journal of Plant Nutrition, 3: 643–54.

Barceló, J. & Poschenrieder, C., 1997. “Chromium in plants”. En: Canali, S., Tittarelli, F., Sequi, P., (eds.), “Chromium Environmental Issues”, pp. 101–129. Franco Angeli, Milano.

Basta, N.T., Ryan, J.A., Chaney, R.L., 2005. “Trace Element Chemistry in Residual-Treated Soil: Key Concepts and Metal Bioavailability”. Journal of Environmental Quality, 34: 49–63.

Bennett, L.E., Burkhead, J.L., Hale, K.L., Terry, N., Pilon, M., Pilon-Smits, E.A.H., 2003. “Analysis of transgenic indian mustard plants for phytoremediation of metal-contaminated mine tailings”. Journal of Environmental Quality, 32: 432–440.

Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., Raskin, I., 1997. “Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents”. Environmental Science & Thecnology, 31: 860–865.

Bluskov, S., Arocena, J.M., Omotoso, O.O., Young, J.P., 2005. “Uptake, distribution, and speciation of chromium in *Brassica Juncea*”. International Journal of Phytoremediation, 7: 153–165.

BOE nº 262, 1990. “Real Decreto 1310/1990, de 29 de Octubre, por el que se regula la utilización de lodos de depuración en el sector agrario”.

Boyd, R.S. & Martens, S.N., 1992. “The raison d'dtre for metal hyperaccumulation by plants”. En: Baker, A.J.M., Proctor, J., Reeves, R.D., (eds.), “The Vegetation of Ultramafic (Serpentine) Soils”, pp. 279-289. Intercept, Andover.

Calheiros, C.S.C., Rangel, A.O.S.S., Castro, P.M.L., 2007. “The effects of tannery wastewater on the development of different plant species and chromium accumulation in *Phragmites australis*”. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 55: 404-414.

Canali, S., Tittarelli, F., Sequi, P. (eds.), 1997. “Chromium Environmental Issues”. Franco Angeli, Milano.

Cary, E.E, Allaway, W.H., Olson, O.E, 1977a. “Control of chromium concentration in food plants 1. Absorption and translocation of chromium by plants”. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 25: 300–304.

Cary, E.E, Allaway, W.H., Olson, O.E., 1977b. “Control of chromium concentration in food plants, 2. Chemistry of chromium in soils and its availability to plants”. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 25: 305–309.

Cervantes, C., 1991. “Bacterial interactions with chromate”. Antonie Leeuwenhoek, 59: 229-233.

Chandra, P., Sinha, S., Rai, UN., 1997. “Bioremediation of Cr from water and soil by vascular aquatic plants”. En: Kruger, E.L., Anderson T.A., Coats, J.R., (eds.), “Phytoremediation of soil and water contaminants”, pp 274–282. ACS symposium series No. 664, American Chemical Society, Washington, DC.

Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Angle, J.S., Baker, A.J.M., 1997. “Phytoremediation of soil metals”. Current Opinion in Biotechnology, 8: 279 – 284.

Chang, A.C., Granato, T.C., Page, A.L. 1992. “A methodology for establishing phytotoxicity criteria for chromium, copper, nickel, and zinc in agricultural land application of municipal sewage sludges”. Journal of Environmental Quality, 21: 521–536.

Chatterjee, J. & Chatterjee, C., 2000. “Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower”. Environmental Pollution, 109: 69–74.

Chen, H. & Cutright, T., 2001. “EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr and Ni uptake by *Helianthus annuus*”. Chemosphere, 45: 21–28.

Chen, Y., Li, X., Shen, Z., 2004. “Leaching and uptake of heavy metals by ten different species of plants during an EDTA-assisted phytoextraction process”. Chemosphere, 57: 187–196.

Chen, Y., Wang, Y., Wu, W., Lin, Q., Xue, S., 2006. “Impacts of chelate-assisted phytoremediation on microbial community composition in the rhizosphere of a copper accumulator and non-accumulator”. Science of the Total Environment, 356: 247– 255.

Chen, Y.X., Zhu, Z.X., He, Z.Y., 1994. “Pollution behaviour of organic Cr(III) complexes in soil–plant system”. Chinese Journal of Applied Ecology, 5: 187–91.

Chiu, K.K., Ye, Z.H., Wong, M.H., 2005. “Enhanced uptake of As, Zn, and Cu by *Vetiveria zizanoides* and *Zea mays* using chelating agents”. Chemosphere, 60: 1365–1375.

Clemente, R. & Bernal, M.P., 2006. “Fractionation of heavy metals and distribution of organic carbon in two contaminated soils amended with humic acids”. Chemosphere, 64: 1264–1273.

Cooper, E.M., Sims, J.T., Cunningham, S.D., Huang, J.W., Berti, W.R., 1999. “Chelate-assisted phytoextraction of lead from contaminated soils”. Journal of Environmental Quality, 28: 1709–1719.

Davies, F.T., Puryear, J.D., Newton, R.J., Egilla, J.N., Grossi, J.A.S., 2001. “Mycorrhizal fungi enhance accumulation and tolerance of chromium in sunflower (*Helianthus annuus*)”. Journal of Plant Physiology, 158: 777– 786.

Dickinson, N.M. & Pulford, I.D., 2005. “Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail”. Environment International, 31: 609– 613.

Diez Lázaro, J., Kidd, P.S., Monterroso Martínez, C., 2006. “A Phytogeochemical study of the Trás-os Montes region (NE Portugal): Possible species for plant-based soil remediation technologies”. Science of the Total Environment, 354: 265-277.

Dos Santos Utmazian, M.N., Wieshammer, G., Vega, R., Wenzel, W.W., 2007. “Hydroponic screening for metal resistance and accumulation of cadmium and zinc in twenty clones of willows and poplars”. Environmental Pollution, 148: 155-165.

Ebbs, S.D. & Kochian, L.V., 1998. “Phytoextraction of zinc by oat (*Avena sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), and Indian mustard (*Brassica juncea*)”. Environmental Science & Thecnology, 32: 802–806.

Epstein, A.L., Gussman, C.D., Blaylock, M.J., Yermiyahu, U., Huang, J.W., Kapulnik, Y., Orser, C.S., 1999. “EDTA and Pb–EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil”. Plant and Soil, 208: 87–94.

Evangelou, M.W.H., Daghan, H., Schaeffer, A., 2004. “The influence of humic acids on the phytoextraction of cadmium from soil”. Chemosphere, 57: 207–213.

Evangelou,M.W.H., Ebel, M., Schaeffer, A., 2006. “Evaluation of the effect of small organic acids on phytoextraction of Cu and Pb from soil with tobacco *Nicotiana tabacum*”. Chemosphere, 63: 996–1004.

Fendorf, S.E., 1995. “Surface reaction of chromium in soils and waters”. Geoderma, 67: 55–71.

Freitas, H., Prasad, M.N.V., Pratas, J., 2004. “Plant community tolerant to trace elements growing on the degraded soils of Sao Domingos mine in the south east of Portugal: environmental implications” Environment International, 30: 65– 72.

Garbisu, C., Llama, M.J., Serra J.L, 1997. “ Effect of heavy metals on chromate reduction by *Bacillus subtilis*”. The Journal of General and Applied Microbiology, 43: 369-371.

Greman, H., Vodnik, D., Velikonja-Bolta, S., Lestan, D., 2003. “Ethylenediaminedissuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction”. Journal of Environmental Quality, 32: 500–506.

Haag-Kerwer, A., Schäfer, H.J., Heiss, S., Walter, C., Rausch, T., 1999. "Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis". Journal of Experimental Botany, 50: 1827–1835.

Halim, M., Conte, P., Piccolo, A., 2003. "Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils induced by exogenous humic substances". Chemosphere, 52: 265–275.

Hammer, D., Kayser, A., Keller, C., 2003. "Phytoextraction of Cd & Zn with *Salix viminalis* in field trials". Soil Use and Management, 19: 187-192.

Han, F.X., Banin, A., Su, Y., Monts, D.L., Plodinec, M.J., Kingery, W.L., Triplett, G.B., 2002. "Industrial age anthropogenic inputs of heavy metals into the pedosphere". Naturwissenschaften, 89: 497–504.

Han, F.X., Su, Y, Maruthi Sridhar, B.B., Monts, D.L, 2004a. "Distribution, transformation and bioavailability of trivalent and hexavalent chromium in contaminated soil". Plant and Soil, 265: 243–252.

Han, F.X., Maruthi Sridhar, B.B., Monts, D.L., Su, Y., 2004b. "Phytoavailability and toxicity of trivalent and hexavalent chromium to *Brassica juncea"*. New Phytologist, 162: 489–499.

Hermle, S., Günthardt-Goerg, M.S., Schulin, R., 2006. "Effects of metal-contaminated soil on the performance of young trees growing in model ecosystems under field conditions". Environmental Pollution, 144: 703-714.

Hsiao, K., Kao, P., Hseu, Z., 2007. "Effects of chelators on chromium and nickel uptake by *Brassica juncea* on serpentine-mine tailings for phytoextraction". Journal of Hazardous Materials, 148: 366–376.

Huang, J.W., Blaylock, M.J., Kapulnik, Y., Ensley, B.D., 1998. "Phytoremediation of uranium-contaminated soils: role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants". Environmental Science & Thecnology, 32: 2004–2008.

Huang, J.W., Chen, J., Berti, W.B., Cunningham, S.D., 1997. "Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction". Environmental Science & Thecnology, 31: 800–805.

Jiang, X.J., Luo, Y.M., Zhao, Q.G., Baker, A.J.M., Christie, P., Wong, M.H., 2003. "Soil Cd availability to indian mustard and environmental risk following EDTA addition to Cd-contaminated soil". Chemosphere, 50: 813–818.

Kabata-Pendias A. & Pendias H. 2001. "Trace elements in soils and plants". CRC. Press, Florida.

Kabata-Pendias, A, Pendias, H., Kabata-Pendias, A., 2000. "Trace Elements in Soils and Plants". 3th ed. CRC Press.

Kabata-Pendias, A. & Pendias, H., 1992. "Trace Elements in Soils and Plants". 2nd Edition. CRC Press Inc. Bocca Raton, Florida.

Kabata-Pendias, A., & Pendias, H., 1984. "Trace elements in soils and plants". Boca Raton, FL: CRC Press, Inc, 1984. p. 365.

Kamburova, M. & Rankov, V., 1995. "The chromium content in the products of some vegetables". Agrochimica, 39: 260–266.

Kayser, A., Wenger, K., Keller, A., Attinger, W., Felix, H.R., Gupta, S.K., Schulin, R., 2000. "Enhancement of phytoextraction of Zn, Cd and Cu from calcareous soil: the use of NTA and sulfur amendments". Environmental Science & Thecnology, 34: 1778–1783.

Kidd, P.S., Diez, J., Monterroso, C., 2004. "Tolerance and bioaccumulation of heavy metals in *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* and its potencial for phytoextraction". Plant and Soil, 258: 189-205.

Kidd, P.S.C. & Monterroso C., 2005. "Metal extraction by *Alyssum serpyllifolium* ssp. *Lusitanicum* on mine-spoil soils from Spain". Science of the Total Environment, 336: 1–11.

Kiekens, L., Deroo, I., Camerlynck, R., 1987. "Uptake and translocation of different forms of chromium by plants". En: Pais, I. (ed.), "Proceedings of the 2nd International Trace Element Symposium", pp. 133–147. Budapest, Hungary, June 1986.

Komárek, M., Tlustosa, P., Száková, J., Chrastny, V., Ettler, V., 2007. “The use of maize and poplar in chelant-enhanced phytoextraction of lead from contaminated agricultural soils”. Chemosphere, 67: 640–651.

Kos, B., Greman, H., Lestan, D., 2003. “Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants”. Plant Soil and Environment , 49: 548–553.

Kos, B. & Lestan, D., 2003. “Induced phytoextraction/soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barriers”. Environmental Science & Thecnology, 37: 624–629.

Kozuh, N., Stupar, J., Gorenc, B., 2000. “Reduction and oxidation processes of chromium in soils”. Environmental Science & Thecnology, 34: 112–119.

Krishnamurti, G.S.R., Cielinski, G., Huang, P.M., vanRees, K.C.J., 1998. “Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acids: Implementation in cadmium availability”. Journal of Environmental Quality, 26: 271–277.

Kulli, B., Balmer, M., Krebs, R., Lothenbach, B., Geiger, G., Schulin, R., 1999. “The influence of nitriloacetate on heavy metal uptake of lettuce and ryegrass”. Journal of Environmental Quality, 28: 1699–1705.

Kuzovkina, Y.A., Knee, M., Quigley, M.F., 2004. “Cadmium and copper uptake and translocation in five willow (*Salix L*.) species”. International Journal of Phytoremediation, 6: 269-287.

Lahouti, M. & Peterson, P.J., 1979. “Chromium accumulation and distribution in crop plants”. Journal of the Science of Food and Agriculture, 30: 136–142.

Lai, H.Y., Chen, Z.S., 2005. “The EDTA effect on phytoextraction of single and combined metals-contaminated soils using rainbow pink (*Dianthus chinensis*)”. Chemosphere, 80: 1062–1071.

Lakanen, E. & Ervio, R., 1971. “A comparison of eight extractans for the determination of plant available micronutrientsin soils”. Acta Agralia Fennica, 123: 223-232.

Landberg, T. & Greger, M., 1996. “Differences in uptake and tolerance to heavy metals in *Salix* from unpolluted and polluted areas”. Applied Geochemistry, 11: 175–180.

Lasat, M.M., 2002. “Phytoextraction of toxic metals: a review of biological mechanisms”. Journal of Environmental Quality, 31: 109–120.

Lombi, E., Zhao, F.J., Dunham, S.J., McGrath, S.P., 2001. “Phytoremediation of heavy metal contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction”. Journal of Environmental Quality, 30: 1919 - 1926.

Losi, M.E., Amrhein, C., Frankenberger, W.T., 1994. “Factors affecting chemical and biological reduction of Cr (VI) in soil”. Environmental Toxicology and Chemistry, 13: 1727–1735.

Lull, G.W., Talnagi, J.W., Strohl, W.R., Pfister, R.M., 1983. “Hexavalent chromium-resistant bacteria isolated from river sediments”. Applied and Environmental Microbiology, 46: 846-854.

Luo, C., Shen, Z., Li, X., 2005. “Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS”. Chemosphere, 59: 1–11.

Luo, C., Shen, Z., Li, X., Baker, A.J.M., 2006a. “Enhanced phytoextraction of Pb and other metals from artificially contaminated soils through the combined application of EDTA and EDDS”. Chemosphere, 63: 1773–1784.

Luo, C., Shen, Z., Lou, L., Li, X., 2006b. “EDDS and EDTA-enhanced phytoextraction of metals from artificially contaminated soil and residual effects of chelant compounds”. Environmental Pollution, 144: 862-871.

Lytle, C.M., Lytle, F.W., Yang, N., Qian, J., Hansen, D., Zayed, A., Terry, N., 1998. “Reduction of Cr(VI) to Cr(III) by wetland plants: Potential for in situ heavy metal detoxification”. Environmental Science & Thecnology, 32(20): 3087–3093.

Macnair, M.R., 2003. “The Hyperacumulation of Metals by Plants”. Advances in Botanical Research, 40: 63-105.

Madrid, F., Liphadzi, M.S., Kirkham, M.B., 2003. “Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation”. Journal of Hydrology, 272: 107–119.

Marques, A.P.G.C., Oliveira, R.S., Rangel, A.O.S.S., Castro, P.M.L., 2006. “Zinc accumulation in *Solanum nigrum* is enhanced by different arbuscular mycorrhizal fungi”. Chemosphere, 65: 1256–1263.

Martell, A.E., Smith, R.M., Motekaitis, R.J., 1998. “NIST SRD 46 Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes, Version 5.0”. NIST. Gaithersburg, MD.

McGrath, S.P., Smith, S., 1990. “Chromium and nickel”. En: Alloway, B.J., (ed.), “Heavy metals in soils”, pp. 150. New York, USA: John Wiley and Sons.

McGrath, S.P. & Zhao, F.J., 2003. “Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils”. Current Opinion in Biotechnology, 14: 277–282.

Meers, E., Ruttens, A., Hopgood, M.J., Samson, D., Tack, F.M.G., 2005a. “Comparison of EDTA and EDDS as potential soil amendments for enhanced phytoextraction of heavy metals”. Chemosphere, 58: 1011– 1022.

Meers, E., Lamsal, S., Vervaeke, P., Hopgood, M., Lust, N., Tack, F.M.G., 2005b. “Availability of heavy metals for uptake by *Salix viminalis* on a moderately contaminated dredged sediment disposal site”. Environmental Pollution, 137: 354-364.

Meers, E., Tack, F.M.G., Verloo, M.G., 2008. “Degradability of ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) in metal contaminated soils: Implications for its use soil remediation”. Chemosphere, 70: 358–363.

Meers, E., Vervaeke, P., Tack, F.M.G., Lust, N., Verloo, M.G., Lesage, E., 2003. “Field trial experiment: phytoremediation with *Salix sp*. on a dredged sediment disposal site in Flanders, Belgium”. Bioremediation Journal, 13: 87–97.

Myttenaere, C. & Mousny, J.M., 1974. “The distribution of Cr-51 in lowland rice in relation to the chemical form and to the amount of stable Cr in the nutrient solution”. Plant and Soil, 41: 65–72.

Nowack, B., 2002. “Environmental chemistry of aminopolycarboxylate chelating agents”. Environmental Science & Thecnology, 36: 4009–4016.

Ohtake, H., Fujii, E., Toda, K., 1990. “Reduction of toxic chromate in an industrial effluent by use of a chromate-reducing strain of *Enterobacter cloacae*”. Environmental Technology, 11: 663-668.

Orama, M., Hyvonen, H., Saarinen, H., Aksela, R., 2002. “Complexation of [S,S] and mixed stereoisomers of N,N0-ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS) with Fe(III), Cu(II), Zn(II) and Mn(II) ions in aqueous solution”. Journal of the Chemical Society Dalton Transactions, 24: 4644–4648.

Pastor,J., Martín Aparicio, A., Gutierrez-Maroto, A., Hernández, A.J., 2007. “Effects of two chelating agents (EDTA and DTPA) on the autochthonous vegetation of a soil polluted with Cu, Zn and Cd”. Science of the Total Environment, 378: 114–118.

Peñalosa, J.M., Carpena, R.O., Vázquez, S., Agha, R., Granado, A., Sarro, M.J., Esteban, E., 2007. “Chelate-assisted phytoextraction of heavy metals in a soil contaminated with a pyritic sludge”. Science of the Total Environment, 378: 199–204.

Pérez-Otero, A., 1992. “Caracterización de los suelos de mina e impactos ambientales de la explotación de sulfuros metálicos de Arinteiro (La Coruña)”. Tesis Doctoral Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Biología.

Perttu, K., 2002. “Content and fluxes of cadmium in the soil–Salix system”. Uppsala Statens energimyndighet.

Peterson, P.J. & Girling, C.A., 1981. “Other trace metals”. En: Leep, N.W. (ed.), “Effect of heavy metal pollution on plant function”, pp 1–7. Applied Science Publ., London.

Pulford, I.D. & Watson, C., 2003. “Phytoremediation of heavy-metal-contaminated land by trees – a review”. Environment International, 29: 529-540.

Pulford, I.D., Watson, C., McGregor, S.D., 2001. “Uptake of chromium by trees: prospects for phytoremediation”. Environmental Geochemistry and Health, 23: 307– 311.

Puschenreiter, M., Stöger, G., Lombi, E., Horak, O., Wenzel, W.W., 2001. "Phytoextraction of heavy metal contaminated soils with *Thlaspi goesingense* and *Amaranthus hybridus*: Rhizosphere manipulation using EDTA and ammonium sulphate". Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 164: 615-621.

Quartacci, M.F., Argilla, A., Baker, A.J.M., Navari-Izzo, F., 2006. "Phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by Indian mustard". Chemosphere, 63: 918–925.

Quartacci, M.F., Baker, A.J.M., Navari-Izzo, F., 2005. "Nitriloacetate- and citric acid-assisted phytoextraction of cadmium by Indian mustard (*Brassica juncea* (L.) Czernj, *Brassicaceae*)". Chemosphere, 59: 1249–1255.

Raskin, I., Kumar, P., Dushenkov, V., Salt, D.E., 1994. "Bioconcentration of heavy metals by plants". Current Opinion in Biotechnology, 5: 285–290.

Robinson, B.H., Brooks, R.R., Clothier, B.E., 1999. "Soil amendments affecting nickel and cobalt uptake by *Berkheya coddii*: potential use for phytomining and phytoremediation". Annals of Botany, 84: 689–694.

Römkens, P., Bouwman, L., Japenga, J., Draaisma, C., 2002. "Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils". Environmental Pollution, 116: 109–121.

Rytter, R-M., 2001. "Biomass production and allocation, including fine-root turnover, and annual N uptake in lysimeter-grown basket willows". Forest Ecology and Management, 140: 177– 192.

Salt, D.E., Blaylock, M., Nanda Kumar, P.B.A., Dushenkov, V., Ensley, B.D., Chet, I., Raskin, I., 1995. "Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants". Biotechnology, 13: 468–474.

Santos, F.S., Hernández-Allica, J., Becerril, J.M., Amaral-Sobrinho, N., Mazur, N., Garbisu, C., 2006. "Chelate-induced phytoextraction of metal polluted soils with *Brachiaria decumbens*". Chemosphere, 65: 43–50.

Sekhar, K.C., Kamala, C.T., Chary, N.S., Balaram, V., Garcia, G., 2005. "Potential of Hemidesmus indicus for phytoextraction of lead from industrially contaminated soils". Chemosphere, 58: 507–514.

Shahandeh, H. & Hossner, L.R, 2000a. "Enhancement of Cr(III) phytoaccumulation". International Journal of Phytoremediation, 2: 269– 286.

Shahandeh, H. & Hossner, L.R, 2000b. "Plant screening for chromium phytoremediation". International Journal of Phytoremediation, 2: 31 – 51.

Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., Avudainayagam, S., 2005. "Chromium toxicity in plants". Environment International, 31: 739– 753.

Shanker, A.K., Djanaguiraman, M., Pathmanabhan, G., Sudhagar, R., Avudainayagam, S., 2003. "Uptake and phytoaccumulation of chromium by selected tree species". Proceedings of the International Conference on Water and Environment held in Bhopal, M.P. India, 2003.

Sharma, D.C., Sharma, C.P., Tripathi, R.D., 2003. "Phytotoxic lesions of chromium in maize". Chemosphere, 51: 63–68.

Shen, Z.G., Li, X.D., Wang, C.C., Chen, H.M., Chua, H., 2002. "Lead phytoextraction from contaminated soils with high biomass plant species". Journal of Environmental Quality, 31: 1893–1900.

Shu, W.S., Yeb, Z.H., Lana, C.Y., Zhanga Z.Q., Wongb M.H., 2002. "Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of Paspalum distichum and Cynodon dactylon". Environmental Pollution, 120: 445–453.

Simon, L., Csillag, J., Szegvári, I., 2003. "Impact of picolinic acid on the chromium accumulation in fodder radish and komatsuna". Plant and Soil, 254: 337–348.

Simon, L., Szegvári, I., Prokisch, J., 2001. "Enhancement of Chromium phytoextraction capacity of fodder radish with picolinic acid". Environmental Geochemistry and Health, 23: 313–316.

Singh, S. & Sinha, S., 2005. "Accumulation of metals and its effects in *Brassica juncea* (L.) Czern. (cv. Rohini) grown on various amendments of tannery waste". Ecotoxicology and Environmental Safety, 62: 118–127.

Sinha, S., Saxena, R., Singh, S., 2002. “Comparative studies on accumulation of Cr from metal solution and tannery effluent under repeated metal exposure by aquatic plants: its toxic effects”. Environmental Monitoring and Assessment, 80: 17–31.

Sommers L.E. & Lindsay W.L. 1979. “Effect of pH and redox on predicted heavy metal-chelate equilibria in soils”. Soil Science Society of America Journal, 43: 39–47.

Srivastava, S., Nigam, R., Prakash, S., Srivastava, M.M., 1999a. “Mobilization of trivalent chromium in presence of organic acids: a hydroponic study of wheat plant (*Triticum vulgare*)”. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 63: 524– 30.

Srivastava, S., Prakash, S., Srivastava, M.M., 1999b. “Chromium mobilization and plant availability—the impact of organic complexing ligands”. Plant and Soil 212: 203 – 208.

Sun, B., Zhao, F.J., Lombi, E., McGrath, S.P., 2001. “Leaching of heavy metals from contaminated soil using EDTA”. Environmental Pollution, 113: 111–120.

Tandy, S., Bossart, K., Mueller, R., Ritschel, J., Hauser, L., Schulin, R., Nowack, B., 2004. “Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents”. Environmental Science & Thecnology, 38: 937–944.

Tandy, S., Schulin, R., Nowack, B., 2006a. The influence of EDDS on the uptake of heavy metals in hydroponically grown sunflowers”. Chemosphere, 62: 1454–1463.

Tandy, S., Schulin, R., Nowack, B., 2006b. “Uptake of metals during chelant-assisted phytoextraction with EDDS related to the solubilized metal concentration”. Environmental Science & Thecnology, 40: 2753–2758.

Tietjen, C., 1975. “Principal problems of the use of city wastes for crop production and soil conservation”. FAO Soils Bull, 27: 221 –226.

Turgut, C., Pepe, M.K., Cutright, T.J., 2004a. “The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*”. Environmental Pollution, 131: 147-154.

Turgut, C., Pepe, M.K., Cutright, T.J., 2004b., “The effect of EDTA on Helianthus annuus uptake, selectivity, and translocation of heavy metals when grown in Ohio, New Mexico and Colombia soils”. Chemosphere, 58: 1087–1095.

Ure, A. M., Quevauviller, P., Muntau, H. y Griepink, B., 1993. "Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of the European Communities ". International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 51: 135-151.

Vassil, A.D., Kapulnik, Y., Raskin, I., Salt, D.E., 1998. “The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian mustard”. Plant Physiology, 117: 447–453.

Vazquez, M.D., Poschenrieder, Ch., Barceló, J., 1987. “Chromium VI induced structural and ultrastructural changes in bush bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.)”. Annals of Botany, 59: 427–438.

Wangeline, A.L., Burkhead, J.L., Hale, K.L., Lindblom, S.D., Terry, N., Pilon, M., Pilon-Smits, E.A.H., 2004. “Overexpression of ATP Sulfurylase in Indian Mustard: Effects on Tolerance and Accumulation of Twelve Metals”. Journal of Environmental Quality, 33: 1-7.

Wasay, S.A., Barrington, S.F., Tokunaga, S., 1998. “Remediation of soils polluted by heavy metals using salts of organic acids and chelating *agents”.* Environmental Technology, 19: 369–379.

Watson, C., Pulford, I.D., Riddell-Black, D., 2003. “Screening of willow species for resistance to heavy metals: comparison of performance in a hydroponics system and field trials”. International Journal of Phytoremediation, 5: 351-365.

Wenger, K., Kayser, A., Gupta, S.K., Furre, G., Schulin, R., 2002. “The comparison of NTA and elemental sulfur as potential soil amendments”. Soil & Sediment Contamination, 1: 655–672.

White, J.C., Mattina, M.I., Lee, W-Y., Eitzer, B.D., Iannucci-Berger, W., 2003. “Role of organic acids in enhancing the desorption and uptake of weathered p,p´-DDE by *Cucurbita pepo*”. Environmental Pollution, 124: 71–80.

Wilkins, D.A., 1978. “The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth”. New Phytologist, 80: 623–633.

Wittbrodt, P.R. & Palmer, C.D., 1996. “Effect of temperature, ionic strength, background electrolytes and Fe (III) on the reduction of hexavalent chromium by soil humic substance”. Environmental Science & Thecnology 30: 2470–2477.

Wu, L.H., Luo, Y.M., Xing, X.R., Christie, P., 2004. “EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with Indian mustard and associated potential leaching risk”. Agriculture, Ecosystems & Environment, 102: 307–318.

Zar, J.M., 1984. "Biostatistical análisis". 2nd edition. Prentice-Hall International Editions.

Zayed, A.M. & Terry, N. 2003. “Chromium in the environment: factors affecting biological remediation”. Plant and Soil, 249: 139–156.

Conclusiones Generales

De acuerdo con los resultados globales encontrados en los distintos capítulos, se resumen a continuación las conclusiones generales obtenidas:

Las características geoquímicas de las rocas juegan un papel importante en el contenido y fraccionamiento de los metales pesados en el suelo. Adicionalmente, factores edáficos como el pH, en los casos del Mn y Zn, o el contenido en materia orgánica, en el caso del Cu, tienen una marcada influencia sobre su biodisponibilidad. Del conjunto de especies estudiadas en suelos desarrollados sobre una gran variedad de materiales originales dentro de la zona de Tras-Os-Montes (Portugal), *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae), *Lavandula stoechas* L. (Lamiaceae), *Plantago subulata* L. subsp. *radicata* (Plantaginaceae) y *Thymus mastichina* L. (Lamiaceae) presentaron capacidad para bioacumular Cr, Mn y Zn en su parte aérea, aunque el nivel de bioacumulación difirió en función de las diferentes condiciones edáficas y no siempre se obtuvieron las mayores acumulaciones de metales sobre suelos serpentiníticos con mayor concentración total. En concordancia con la biodisponibilidad de los metales en el suelo, la acumulación de Mn y Zn fue muy acusada en las poblaciones recogidas en los suelos más ácidos (esquistos), mientras que la acumulación de Cr fue característica de las poblaciones de los suelos sobre ultrabásicas (peridotitas). A excepción de *P. subulada*, de baja producción de biomasa, las otras tres especies podrían llegar a tener un valor potencial para su uso en procesos de fitocorrección.

Los suelos del yacimiento de Rubiais (Lugo) tienen pH entre neutro y ligeramente alcalino, baja ClCe, escasez de materia orgánica y nutrientes y llegan a presentar una fuerte contaminación en Zn, Pb, Cd, Hg (ampliamente variable dentro de la mina). Puntualmente presentan, además, una ligera contaminación en Cu y Ni. Los metales contaminantes se presentan en un escaso porcentaje como formas solubles/intercambiables (con excepción del Cd), aunque los valores absolutos de esta fracción y consecuentemente de la fracción biodisponible (extraíble en EDTA) resultan generalmente elevados, existiendo un fuerte riesgo potencial de absorción y acumulación de metales en la vegetación colonizadora, necesariamente adaptada a estas condiciones. Las especies claramente hipertolerantes a las elevadas concentraciones de metales en los suelos fueron *Salix atrocinerea* L. (Salicaceae), en gran medida *Betula celtiberica* Rothmaler & Vasconcellos (Betulaceae), *Hieracium sp*. (Asteraceae) y fundamentalmente *Cytisus scoparius* (L.) Link. y *Cytisus multiflorus* (L´Hér) Sweet. (Fabaceae), dominantes dentro de la zona de estudio. La acumulación de metales en hojas presentó una amplia variabilidad tanto entre especies como entre individuos, pero *B. celtibérica* y principalmente *S. atrocinerea* se mostraron usualmente como especies con un elevado nivel de acumulación de Zn y Cd, con factores de bioacumulación comparables a las de muchas hiperacumuladoras en condiciones de campo. Por otro lado, *C. scoparius* y *C. multiflorus* presentaron generalmente estrategias de exclusión de Zn y Cd (FB<1), y podrían

resultar muy interesantes en procesos de fitoestabilización y revegetación de suelos contaminados.

Cistus ladanifer L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae) procedente del área de Tras-Os-Montes mejoró significativamente su crecimiento en suelos degradados con la fertilización (N/P) y la acidificación hasta pH 5 de los sustratos. A pesar de que estos efectos fueron observados tanto en la población procedente de los suelos ácidos sobre esquistos como en la originaria de suelos serpentiníticos, en esta última población fueron más pronunciados. Los tratamientos de acidificación del sustrato, pero no los de fertilización, influyeron también en la biodisponibilidad de metales como el Co, Ni y, principalmente, el Mn y Zn, lo que se reflejó en una mayor acumulación de Co, Mn y Zn en la parte aérea de *C. ladanifer* bajo condiciones ácidas. Por su parte, el incremento de biomasa inducido por la fertilización provocó una dilución significativa de las concentraciones de metales en la parte aérea, especialmente de Co y Ni. Como resultado de todo ello, la fertilización podría favorecer un posible proceso de fitoestabilización con *C. ladanifer* al mejorar el crecimiento y establecimiento de esta planta y reducir las concentraciones de metales en su parte aérea. El incremento de biomasa supuso, no obstante, una mayor capacidad de *C. ladanifer* para fitoextraer los metales mayoritariamente acumulados por la planta, como Mn y Zn. La acidificación del sustrato hasta un pH en torno a 5 podría favorecer, así mismo, este proceso de fitoextracción de Mn y Zn al estimular el crecimiento de *C. ladanifer* y la acumulación de estos metales en su parte aérea.

El nivel de tolerancia al Zn de *Cytisus scoparius* (L.) Link. (Fabaceae) fue significativamente mayor al de la reconocida especie acumuladora de Cd/Zn *Salix viminalis* L. (Salicaceae) y al de *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae), que presentó una fuerte reducción de su crecimiento con el contenido en Zn de los suelos. Existieron diferencias, no obstante, en función de la población de *C. ladanifer* considerada, de manera que aquella procedente de suelos ácidos derivados de esquistos con mayor biodisponibilidad de Zn tendió a mostrar un mayor crecimiento y un mayor nivel de tolerancia, cercano al de *S. viminalis* a niveles de contaminación de ligeros a moderados, que la población originaria de suelos serpentiníticos con abundancia de Ni, Cr y Co. *Cytisus scoparius* mostró una estrategia de tolerancia de exclusión (IT<1), sin variaciones de concentración de Zn en su parte aérea en los sustratos contaminados, mientras que *S. viminales* y *C. ladanifer* (ambas poblaciones) presentaron una capacidad de acumulación de Zn en su parte aérea similar hasta un nivel de contaminación moderado, sólo a partir del cual la acumulación en *S. viminalis* fue superior. Las propiedades físico-químicas de la rizosfera fueron semejantes en las tres especies, por lo que factores como la acidificación o la exudación de compuestos orgánicos no parecen suficientes para explicar los diferentes patrones de acumulación de Zn en cada una de ellas. No obstante, la capacidad de complejación de la materia orgánica exudada por *C. scoparius* tendió a ser superior, lo que podría relacionarse con la formación de complejos de gran tamaño que provocan una baja translocación de este metal hacia la parte aérea. Los resultados encontrados mostraron a *S.*

viminalis y *C. ladanifer* (exclusivamente la población procedente de suelos esquistosos) como especies con capacidad potencial para fitoextraer Zn eficientemente sobre suelos con un nivel de contaminación moderado (<700 mg kg^{-1}), mientras que *Cytisus scoparius* resulta de especial interés en procesos de fitoestabilización de suelos contaminados en Zn.

Cistus ladanifer L. subsp. *ladanifer* (Cistaceae), *Salix viminalis* L. (Salicaceae) y *Brassica juncea* L. (Brassicaceae) fueron capaces de crecer en suelos contaminados en Cr, aunque el nivel de tolerancia fue muy diferente entre las tres especies. *Brassica juncea* se mostró como una especie altamente tolerante al Cr, seguida de *S. viminalis* y finalmente *C. ladanifer*, que sufrió claros síntomas de toxicidad y un escaso desarrollo. La adición de ácido etilendiaminodisuccínico (EDDS), pero no la de ácido picolínico (AP), provocó un incremento significativo del Cr soluble y del Cr potencialmente biodisponible en los suelos contaminados, lo que se tradujo en una inducción de la acumulación de Cr en los tejidos vegetales de las plantas. Este incremento fue más acusado en las raíces de *C. ladanifer* y de *S. viminalis*, que se mostraron como especies exclusoras de Cr, mientras que en el caso de *B. juncea* el mayor incremento se produjo en la parte aérea, al presentar una estrategia de acumulación. La elevada concentración de Cr alcanzada en la raíz de *S. viminalis* tras la adición de EDDS y su elevada biomasa sugiere que el cosechado de este tejido podría plantearse como una opción atractiva para un proceso de fitoextracción de Cr exitoso con *S. viminalis*. Por su parte, la concentración de Cr alcanzada en la parte aérea de *B. juncea* tras la adición de EDDS, que llega a niveles de hiperacumulación (>1000 mg kg^{-1}), convierte a esta especie en una buena candidata para la fitoextracción inducida de Cr en suelos contaminados.

ANEXO 1

ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL ÁREA DE TRAS-OS-MONTES (CAPÍTULO 3)

Tabla 1.1.- Características generales de los suelos recolectados en los diferentes puntos de muestreo (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (n.d.= No detectado: Na_{CIC} <0.04 / Al_{CIC} <0.02 / H_{CIC} <0.01).

Muestra	pH_{H2O}	pH_{KCl}	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}	Al_{CIC}	H_{CIC}	%C	%N
					cmol(+) kg^{-1}					
S1	6.3	5.7	5.02	5.85	n.d.	0.26	n.d.	n.d.	2.24	0.19
S2	6.2	5.9	5.60	8.41	0.04	0.21	n.d.	n.d.	3.40	0.24
S3	6.9	5.6	4.31	8.05	n.d.	0.26	n.d.	n.d.	1.71	0.13
S4	6.4	5.3	4.60	6.58	n.d.	0.35	n.d.	n.d.	1.37	0.10
S5	6.0	5.0	6.00	6.58	0.04	0.28	n.d.	n.d.	1.64	0.13
S6	6.4	5.3	8.70	11.85	0.04	0.27	n.d.	n.d.	2.29	0.34
S7	6.2	5.1	7.20	6.91	0.04	0.13	n.d.	n.d.	2.19	0.16
S8	6.7	5.7	7.30	13.83	n.d.	0.49	n.d.	n.d.	2.45	0.27
S9	6.9	5.6	9.10	11.85	0.04	0.55	n.d.	n.d.	3.07	0.29
S10	7.0	5.8	5.60	12.51	0.04	0.14	n.d.	n.d.	1.33	0.10
UB(1,2,3)	5.8	5.3	5.76	4.02	0.05	0.16	n.d.	0.02	1.98	0.12
UB(4,5)	5.9	5.3	5.58	3.48	0.04	0.14	n.d.	0.03	1.53	0.12
UB6	6.3	5.4	5.51	3.48	0.04	0.28	n.d.	n.d.	1.87	0.10
B(1,2)	6.3	5.3	22.33	3.84	n.d.	0.23	n.d.	0.05	1.81	0.10
B(3,4)	5.2	5.2	24.11	2.74	n.d.	0.45	n.d.	n.d.	5.18	0.28
B5	5.3	5.2	18.00	1.83	n.d.	0.59	0.27	0.04	5.55	0.42
B6	6.5	4.7	15.50	4.61	0.05	0.21	n.d.	n.d.	0.88	0.02
M1	4.7	4.6	2.56	0.73	n.d.	0.31	0.69	0.12	1.32	0.09
M(2,3,5)	4.9	4.6	1.83	0.73	n.d.	0.32	0.64	0.10	0.73	0.06
M4	5.1	4.7	1.97	0.73	n.d.	0.34	0.57	0.08	0.65	0.04
M6	5.3	4.2	3.20	0.99	0.04	0.77	1.11	0.03	0.74	0.02
SC1-1	4.9	4.4	0.20	0.09	n.d.	0.21	2.35	0.14	2.27	0.14
SC1-2	4.8	4.7	0.81	0.55	0.05	0.48	1.73	0.14	2.25	0.17
SC1-(3,4)	5.1	4.8	2.93	1.83	0.04	0.47	0.67	0.07	2.68	0.17
SC1-5	4.3	4.8	1.20	0.33	0.06	0.24	2.22	0.28	3.28	0.18
SC1-6	4.9	4.0	0.50	0.16	0.04	0.31	2.67	0.45	0.74	0.04
SC2-(1,2,3)	4.6	4.0	8.00	1.48	n.d.	0.55	0.29	0.12	2.23	0.20
SC2-(4,5)	4.7	3.8	6.40	1.15	n.d.	0.50	1.11	0.23	1.87	0.18
SC2-6	4.7	3.6	3.00	0.33	n.d.	0.30	2.67	0.55	0.83	0.07

Tabla 1.2.- Concentración de metales pesados en los suelos recolectados en los diferentes puntos de muestreo (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Cd <5* mg kg^{-1} *en todas las muestras).

Muestra	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
				mg kg^{-1}			
S1	168	3330	170	2600	1230	36	81
S2	214	4210	290	2810	1660	21	95
S3	153	2300	190	2100	1610	22	69
S4	170	5000	200	2000	1080	18	90
S5	180	5000	200	3000	1070	18	90
S6	200	5000	200	3000	1000	18	90
S7	180	6000	140	3000	1090	20	100
S8	190	5000	40	2000	2000	20	90
S9	180	5000	40	2000	2000	19	100
S10	170	3000	30	2000	3000	18	80
UB(1,2,3)	94	1150	60	1930	980	17	68
UB(4,5)	93	1340	50	1800	990	19	71
UB6	96	1340	50	1840	920	19	76
B(1,2)	101	295	260	2150	123	20	127
B(3,4)	92	255	230	2180	102	20	111
B(5)	88	280	270	2460	112	36	115
B6	100	390	280	2000	160	16	110
M1	45	150	30	656	62	21	75
M(2,3,5)	53	159	30	671	70	20	63
M4	51	182	30	650	68	19	66
M6	50	170	30	590	60	20	70
SC1-1	71	197	60	2990	84	39	92
SC1-2	61	217	60	2490	77	48	98
SC1-(3,4)	53	184	50	2500	72	38	94
SC1-5	50	170	50	3000	70	36	90
SC1-6	50	190	50	2000	60	38	80
SC2-(1,2,3)	50	130	30	1000	50	67	80
SC2-(4,5)	50	130	30	2000	45	81	80
SC2-6	50	220	50	2000	90	82	90

Tabla 1.3.- Concentración de la fracción biodisponible de metales pesados en los suelos recolectados en los diferentes puntos de muestreo (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (n.d.= No detectado: Cr_{NH4NO3} <0.5 / Cu_{NH4NO3} <0.12 / Ni_{NH4NO3} <0.25 / Pb_{EDTA} <0.25 / Pb_{NH4NO3} <0.5 / Zn_{NH4NO3} <0.12).

Muestra	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
				mg kg^{-1}			
Extraíble en EDTA							
S1	2.8	10.4	32.5	69.5	111.0	n.d.	1.9
S2	4.7	9.0	50.5	104.5	150.0	n.d.	2.2
S3	1.4	3.7	22.0	43.0	95.0	n.d.	0.9
S4	1.8	3.4	26.0	46.0	74.0	n.d.	1.2
S5	2.6	8.7	37.0	75.0	90.0	n.d.	1.6
S6	2.4	6.4	34.5	69.0	125.0	n.d.	1.6
S7	2.8	6.4	21.5	95.5	105.0	n.d.	2.0
S8	1.9	2.0	5.5	46.0	130.0	n.d.	1.1
S9	2.6	6.2	5.5	60.0	195.0	n.d.	1.4
S10	1.4	4.8	3.6	40.0	100.0	n.d.	0.8
UB(1,2,3)	1.7	8.5	4.2	81.5	11.5	n.d.	0.8
UB(4,5)	1.2	7.2	3.5	48.0	11.9	n.d.	0.8
UB6	1.6	7.0	3.7	65.5	12.0	n.d.	0.6
B(1,2)	1.5	2.1	6.0	52.0	1.8	n.d.	1.8
B(3,4)	3.0	2.7	9.5	158.0	2.0	n.d.	5.4
B5	2.4	3.8	24.0	125.0	2.6	10.1	2.3
B6	1.0	1.5	5.5	33.5	1.2	n.d.	0.6
M1	1.3	1.1	1.6	100.0	1.6	n.d.	1.0
M(2,3,5)	1.4	1.1	1.5	60.5	1.1	n.d.	0.8
M4	0.9	1.5	1.4	62.0	1.3	n.d.	0.6
M6	1.1	1.5	1.4	54.0	1.4	n.d.	0.4
SC1-1	1.2	2.6	4.7	76.5	1.8	4.3	0.7
SC1-2	1.3	2.6	4.1	98.0	1.5	5.4	0.9
SC1-(3,4)	1.6	3.1	3.7	173.5	2.0	5.6	1.3
SC1-5	1.0	1.2	3.6	124.0	1.3	5.2	0.9
SC1-6	1.3	3.4	3.8	73.5	1.8	4.7	0.8
SC2-(1,2,3)	2.4	2.5	2.6	178.0	2.4	15.1	6.0
SC2-(4,5)	2.0	2.7	2.5	170.5	2.4	12.0	4.0
SC2-6	1.2	2.0	3.7	117.0	2.7	12.1	3.3
Extraíble en NH_4NO_3							
S1	0.18	n.d.	n.d.	13.00	8.75	n.d.	0.13
S2	0.25	n.d.	0.23	22.25	10.00	n.d.	0.33
S3	0.18	n.d.	0.13	9.75	11.00	n.d.	0.20
S4	0.18	n.d.	n.d.	12.00	8.25	n.d.	0.18
S5	*	n.d.	n.d.	21.25	*	n.d.	*
S6	0.20	n.d.	n.d.	18.00	11.25	n.d.	n.d.
S7	0.28	n.d.	n.d.	32.50	12.25	n.d.	0.18
S8	0.13	n.d.	n.d.	5.50	3.75	n.d.	n.d.
S9	0.15	n.d.	n.d.	8.00	7.25	n.d.	0.15
S10	0.13	n.d.	n.d.	5.00	3.75	n.d.	n.d.
UB(1,2,3)	0.23	n.d.	0.18	15.50	0.45	n.d.	0.45
UB(4,5)	0.23	n.d.	n.d.	9.75	0.53	n.d.	0.33
UB6	0.20	n.d.	0.20	13.75	0.68	n.d.	0.38
B(1,2)	0.33	n.d.	n.d.	16.75	0.30	n.d.	1.05
B(3,4)	0.33	n.d.	0.33	42.50	n.d.	n.d.	1.23
B5	0.20	n.d.	n.d.	24.00	n.d.	n.d.	0.25
B6	0.20	n.d.	n.d.	13.75	n.d.	n.d.	0.15
M1	0.33	n.d.	n.d.	90.00	n.d.	n.d.	0.85
M(2,3,5)	0.25	n.d.	n.d.	45.00	n.d.	n.d.	0.90
M4	0.18	n.d.	n.d.	21.25	n.d.	n.d.	0.50
M6	0.20	n.d.	0.13	22.25	n.d.	n.d.	0.68
SC1-1	0.09	n.d.	0.18	12.00	n.d.	n.d.	0.33
SC1-2	0.09	n.d.	n.d.	19.25	n.d.	n.d.	0.30
SC1-(3,4)	0.09	n.d.	0.20	5.75	n.d.	n.d.	0.33
SC1-5	0.15	n.d.	n.d.	85.00	n.d.	n.d.	0.50
SC1-6	0.15	n.d.	n.d.	50.00	n.d.	n.d.	0.68
SC2-(1,2,3)	0.20	n.d.	0.18	85.00	0.28	n.d.	2.58
SC2-(4,5)	0.25	n.d.	n.d.	105.00	0.43	n.d.	2.33
SC2-6	0.25	n.d.	n.d.	80.00	0.85	n.d.	2.63

** Datos no disponibles*

Tabla 1.4.- Concentración de diferentes fracciones de metales pesados en los suelos recolectados en los puntos de muestreo (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (n.d. = No detectado).

Muestras	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
				mg kg^{-1}			
Cambiable							
S1	0.18	8.00	2.80	13.0	16.40	n.d.	0.13
S2	0.25	10.80	5.43	22.3	20.00	n.d.	0.33
S3	0.18	9.20	3.33	9.8	14.80	n.d.	0.20
S4	0.18	n.d.	2.40	12.0	9.20	n.d.	0.18
S5	*	10.40	2.40	21.3	10.40	n.d.	n.d.
S6	0.20	n.d.	2.80	18.0	16.40	n.d.	n.d.
S7	0.28	n.d.	n.d.	32.5	14.40	n.d.	0.18
S8	0.13	n.d.	n.d.	11.6	20.00	n.d.	n.d.
S9	0.15	n.d.	n.d.	8.0	7.25	n.d.	0.15
S10	0.13	n.d.	n.d.	15.2	30.00	n.d.	n.d.
UB(1,2,3)	0.23	n.d.	0.18	15.5	0.45	n.d.	0.45
UB(4,5)	0.23	n.d.	n.d.	9.8	0.53	n.d.	0.33
UB6	0.20	n.d.	0.2	13.8	0.68	n.d.	0.38
B(1,2)	0.33	n.d.	n.d.	16.8	0.30	n.d.	1.05
B(3,4)	0.33	n.d.	0.33	42.5	0.20	n.d.	1.23
B5	0.20	n.d.	n.d.	24.0	n.d.	n.d.	0.25
B6	0.20	n.d.	n.d.	13.8	n.d.	n.d.	0.15
M1	0.33	n.d.	n.d.	90.0	n.d.	n.d.	0.85
M(2,3,5)	0.25	n.d.	n.d.	45.0	n.d.	n.d.	0.90
M4	0.18	n.d.	n.d.	21.3	n.d.	n.d.	0.50
M6	0.20	n.d.	0.12	22.3	n.d.	n.d.	0.68
SC1-1	n.d.	n.d.	0.18	12.0	n.d.	n.d.	0.33
SC1-2	n.d.	n.d.	n.d.	19.3	n.d.	n.d.	0.30
SC1-(3,4)	n.d.	n.d.	0.20	22.8	n.d.	n.d.	0.33
SC1-5	0.15	n.d.	n.d.	85.0	n.d.	n.d.	0.50
SC1-6	0.15	n.d.	n.d.	50.0	n.d.	n.d.	0.68
SC2-(1,2,3)	0.20	n.d.	0.18	85.0	0.28	n.d.	2.58
SC2-(4,5)	0.25	n.d.	n.d.	105.0	0.43	n.d.	2.33
SC2-6	0.25	n.d.	0.20	80.0	0.85	n.d.	2.63
Óxidos de Mn							
S1	40.0	4.0	4.0	520	88.0	n.d.	n.d.
S2	60.0	n.d.	4.0	720	100.0	n.d.	n.d.
S3	32.0	n.d.	3.2	344	76.0	n.d.	n.d.
S4	30.8	n.d.	4.0	392	76.0	n.d.	n.d.
S5	34.0	4.0	4.0	440	84.0	n.d.	n.d.
S6	52.0	n.d.	4.0	560	88.0	n.d.	n.d.
S7	48.0	n.d.	n.d.	600	68.0	n.d.	n.d.
S8	41.2	n.d.	n.d.	600	96.0	n.d.	n.d.
S9	22.0	n.d.	n.d.	376	104.0	n.d.	n.d.
S10	44.0	n.d.	n.d.	600	152.0	n.d.	n.d.
UB(1,2,3)	n.d.	n.d.	n.d.	184	12.1	n.d.	n.d.
UB(4,5)	4.4	n.d.	n.d.	192	12.0	n.d.	n.d.
UB6	4.8	n.d.	n.d.	184	8.3	n.d.	n.d.
B(1,2)	4.8	n.d.	n.d.	128	4.0	n.d.	n.d.
B(3,4)	n.d.	n.d.	n.d.	136	n.d.	n.d.	n.d.
B5	4.4	n.d.	n.d.	216	n.d.	n.d.	n.d.
B6	4.4	n.d.	n.d.	128	4.0	n.d.	n.d.
M1	n.d.	n.d.	n.d.	120	n.d.	n.d.	n.d.
M(2,3,5)	n.d.	n.d.	n.d.	120	n.d.	n.d.	n.d.
M4	n.d.	n.d.	n.d.	160	n.d.	n.d.	n.d.
M6	n.d.	n.d.	n.d.	104	4.1	n.d.	n.d.
SC1-1	5.2	n.d.	n.d.	760	4.3	n.d.	n.d.
SC1-2	4.0	n.d.	n.d.	520	4.0	n.d.	n.d.
SC1-(3,4)	4.4	n.d.	n.d.	480	4.0	n.d.	n.d.
SC1-5	8.0	n.d.	n.d.	1200	4.1	n.d.	n.d.
SC1-6	5.6	n.d.	n.d.	328	n.d.	n.d.	n.d.
SC2-(1,2,3)	6.8	n.d.	n.d.	360	n.d.	10.8	n.d.
SC2-(4,5)	7.6	n.d.	n.d.	520	4.0	14.4	n.d.
SC2-6	11.6	n.d.	n.d.	880	4.0	27.2	n.d.

**Datos no disponibles*

Tabla 1.4 (continuación).- Concentración de diferentes fracciones de metales pesados en los suelos recolectados en los puntos de muestreo (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (n.d. = No detectado).

Muestras	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
				mg kg^{-1}			
Orgánica							
S1	16.0	21.6	24.0	68	40.0	n.d.	2.0
S2	20.0	42.0	64.0	68	168.0	n.d.	6.0
S3	16.8	40.0	36.0	84	164.0	n.d.	6.0
S4	15.2	17.2	28.0	44	52.0	n.d.	2.0
S5	22.0	21.2	32.0	56	40.0	n.d.	2.0
S6	18.4	28.4	36.0	100	88.0	n.d.	4.4
S7	15.2	22.4	16.0	84	56.0	n.d.	4.0
S8	16.4	21.6	5.6	128	140.0	n.d.	4.4
S9	14.0	18.0	6.0	84	96.0	n.d.	2.4
S10	18.8	14.8	4.0	112	132.0	n.d.	2.4
UB(1,2,3)	6.0	18.4	3.2	56	9.6	n.d.	n.d.
UB(4,5)	6.4	18.4	n.d.	68	8.8	n.d.	n.d.
UB6	6.4	18.0	n.d.	52	8.4	n.d.	n.d.
B(1,2)	5.6	4.4	8.0	68	n.d.	n.d.	2.4
B(3,4)	5.2	5.6	16.0	24	n.d.	n.d.	n.d.
B5	7.2	6.8	32.0	32	n.d.	n.d.	2.8
B6	6.4	5.2	12.0	64	n.d.	n.d.	2.0
M1	4.8	3.2	n.d.	16	n.d.	n.d.	n.d.
M(2,3,5)	5.6	2.4	n.d.	12	n.d.	n.d.	n.d.
M4	4.4	2.0	n.d.	8	n.d.	n.d.	2.0
M6	4.4	2.0	n.d.	12	n.d.	n.d.	n.d.
SC1-1	5.6	7.2	7.2	40	n.d.	n.d.	3.2
SC1-2	6.0	6.8	7.2	40	n.d.	n.d.	3.2
SC1-(3,4)	5.2	6.4	4.8	36	n.d.	n.d.	2.0
SC1-5	6.8	6.8	4.8	48	n.d.	n.d.	2.8
SC1-6	5.2	6.4	4.0	40	n.d.	n.d.	2.0
SC2-(1,2,3)	5.6	4.4	n.d.	76	n.d.	5.2	2.4
SC2-(4,5)	5.6	4.0	n.d.	64	n.d.	4.4	2.8
SC2-6	6.8	5.6	3.6	56	n.d.	n.d.	2.4
Óxidos amorfos de Fe							
S1	13.2	75.6	23.2	132	103.6	8.8	7.2
S2	10.4	39.2	42.0	80	108.8	8.0	4.8
S3	10.8	42.0	21.2	108	123.2	n.d.	4.8
S4	8.0	30.4	25.6	84	99.2	n.d.	3.6
S5	9.2	34.8	18.0	96	59.6	n.d.	3.2
S6	9.6	38.8	20.8	120	90.8	9.2	3.6
S7	7.2	32.4	12.4	84	60.8	n.d.	3.6
S8	19.2	60.4	5.2	248	264.0	11.6	8.0
S9	15.6	56.0	5.6	256	272.0	12.4	7.2
S10	20.0	43.2	4.4	184	296.0	9.2	7.2
UB(1,2,3)	4.8	25.6	3.2	200	18.8	n.d.	n.d.
UB(4,5)	5.2	23.2	3.6	200	16.8	n.d.	n.d.
UB6	4.8	23.2	2.8	200	16.4	n.d.	n.d.
B(1,2)	4.0	12.4	6.8	172	n.d.	n.d.	2.0
B(3,4)	4.8	11.6	12.8	136	n.d.	n.d.	2.4
B5	4.0	14.4	6.4	176	n.d.	18.4	2.4
B6	5.2	13.2	6.0	196	n.d.	n.d.	n.d.
M1	n.d.	n.d.	n.d.	32	n.d.	n.d.	n.d.
M(2,3,5)	n.d.	n.d.	n.d.	20	n.d.	n.d.	n.d.
M4	n.d.	n.d.	n.d.	24	n.d.	n.d.	n.d.
M6	n.d.	n.d.	n.d.	32	n.d.	n.d.	n.d.
SC1-1	4.0	17.2	5.6	196	5.6	11.2	3.6
SC1-2	4.0	18.0	5.2	204	6.0	12.8	4.0
SC1-(3,4)	n.d.	13.6	4.4	136	4.4	10.8	3.2
SC1-5	n.d.	16.8	6.4	172	6.4	11.6	4.4
SC1-6	n.d.	14.0	4.8	240	n.d.	8.8	2.0
SC2-(1,2,3)	n.d.	8.8	2.0	92	n.d.	14.4	2.4
SC2-(4,5)	n.d.	10.0	2.0	136	n.d.	15.6	2.8
SC2-6	n.d.	10.8	2.4	156	n.d.	16.4	2.8

Tabla 1.4 (continuación).- Concentración de diferentes fracciones de metales pesados en los suelos recolectados en los puntos de muestreo (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (n.d. = No detectado).

Muestras	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
				mg kg^{-1}			
Óxidos cristalinos de Fe							
S1	12.8	187.6	25.2	100	202.0	n.d.	10.0
S2	12.4	177.2	37.6	84	195.2	n.d.	8.0
S3	10.0	182.4	40.4	72	264.0	n.d.	7.6
S4	9.2	148.4	32.4	80	194.8	n.d.	7.6
S5	14.0	206.8	37.6	108	220.0	n.d.	11.2
S6	10.8	162.0	25.6	84	182.4	n.d.	8.4
S7	12.0	174.0	22.4	112	190.8	n.d.	9.2
S8	5.2	115.2	4.0	44	268.0	n.d.	4.8
S9	6.4	115.6	3.6	48	292.0	n.d.	5.6
S10	4.8	113.6	2.4	44	312.0	n.d.	5.2
UB(1,2,3)	8.4	94.0	8.8	68	84.0	n.d.	5.6
UB(4,5)	6.4	97.2	6.4	64	84.0	n.d.	5.2
UB6	5.2	102.0	6.8	72	80.0	n.d.	5.6
B(1,2)	4.8	46.8	25.6	92	6.4	n.d.	8.0
B(3,4)	4.4	42.8	32.0	64	6.4	n.d.	8.4
B5	4.8	43.6	26.4	72	6.8	n.d.	9.2
B6	7.6	46.4	24.4	80	6.8	n.d.	6.4
M1	4.0	34.0	3.2	28	4.8	n.d.	4.8
M(2,3,5)	4.0	29.2	4.0	20	4.4	n.d.	4.0
M4	n.d.	31.2	4.0	20	5.2	n.d.	4.0
M6	4.0	31.6	3.6	20	4.4	n.d.	4.0
SC1-1	4.8	42.0	7.2	180	10.8	n.d.	15.6
SC1-2	4.0	47.2	8.4	184	10.4	n.d.	17.6
SC1-(3,4)	4.0	37.6	7.2	144	8.4	n.d.	14.4
SC1-5	7.6	38.0	6.4	136	9.6	n.d.	15.2
SC1-6	5.2	35.6	12.4	184	7.2	n.d.	12.4
SC2-(1,2,3)	n.d.	35.6	4.8	36	4.8	n.d.	11.6
SC2-(4,5)	n.d.	37.2	5.6	44	6.8	n.d.	13.2
SC2-6	n.d.	47.6	12.8	72	11.6	n.d.	22.0

Tabla 1.5.- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el primer muestreo (Julio, 2000) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co <5 mg kg^{-1} en todas las muestras con la excepción de Co en muetras de hojas de A. serpyllifolium (11-20 mg kg^{-1})).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
Localización S										
A. serpyllifolium 1	Hojas	23.0	4.3	160	7440	20	145	56.8	11.7	7.2
	Tallo	11.5	3.5	60	4015	13	494	13.4	4.2	7.9
	Raíz	3.5	2.5	30	1690	19	233	2.5	1.9	9.1
A. serpyllifolium 2	Hojas	8.0	5.5	55	5850	16	467	49.9	8.4	8.8
	Tallo	19.5	2.5	35	1950	18	600	11.5	2.9	7.2
	Raíz	10.0	2.6	30	650	24	539	2.5	1.9	7.1
A. serpyllifolium 3	Hojas	12.0	4.5	55	6500	29	561	53.3	8.2	6.8
	Tallo	9.0	2.5	25	2145	18	483	12.0	3.7	7.8
	Raíz	17.0	3.5	45	1040	17	1350	3.3	2.7	5.9
A. serpyllifolium 4	Hojas	5.0	5.0	50	6270	36	389	41.2	11.4	8.4
	Tallo	2.5	2.5	20	1580	23	156	4.7	3.2	6.4
	Raíz	3.3	3.0	22	840	19	256	3.0	1.4	6.4
A. serpyllifolium 5	Hojas	13.0	4.5	80	7200	25	561	58.5	7.6	3.4
	Tallo	18.5	3.5	50	2730	22	578	12.6	2.2	4.9
	Raíz	19.0	4.0	80	2340	45	1600	10.7	3.0	5.0
C. ladanifer 1	Hojas	10.0	9.8	30	29	30	480	2.8	3.6	8.4
	Tallo	3.0	4.0	35	23	25	172	13.2	1.8	5.4
	Raíz	6.5	3.0	35	20	8	294	11.6	1.4	1.3
C. ladanifer 2	Hojas	9.0	5.0	30	35	30	370	2.6	3.4	7.0
	Tallo	2.5	3.0	32	28	18	100	3.1	1.7	5.3
	Raíz	10.5	3.5	45	30	12	444	3.2	1.2	2.2
C. ladanifer 3	Hojas	5.0	5.3	20	33	40	200	2.2	2.8	8.8
	Tallo	2.5	3.5	30	25	31	83	9.8	1.4	6.4
C. multiflorum 1	Hojas	1.5	5.0	100	17	20	40	4.8	1.0	9.0
	Tallo	2.5	4.0	50	8	15	122	1.1	1.2	6.5
D. gnidium 1	Hojas	*	6.0	120	16	60	50	3.0	2.6	11.8
	Tallo	2.5	10.0	35	22	45	83	3.1	1.4	8.5
G. histrix 1	Hojas	2.1	2.5	40	8	13	67	0.5	1.4	4.3
	Tallo	2.3	2.5	32	8	15	133	0.5	1.0	2.9
	Raíz	9.5	6.5	40	70	11	494	1.2	1.0	3.2
G. histrix 2	Hojas	1.1	3.5	35	8	19	78	0.5	2.0	5.1
	Tallo	3.0	4.0	35	9	21	228	0.6	2.0	1.9
G. histrix 3	Hojas	0.9	5.0	41	12	24	56	0.5	2.6	4.6
	Tallo	2.2	4.5	50	13	17	156	1.2	1.4	1.7
G. histrix 4	Hojas	2.5	6.0	60	8	16	122	0.6	1.6	4.9
	Tallo	2.5	5.0	50	10	17	172	1.2	1.8	3.4
L. stoechas 1	Hojas	9.0	7.0	50	34	30	350	3.1	3.8	23.4
	Tallo	3.0	6.0	17	18	19	278	2.2	1.4	13.1
	Raíz	4.7	7.0	14	19	13	211	0.9	1.0	6.4
L. stoechas 2	Hojas	8.5	10.0	65	30	30	615	12.9	5.7	14.4
	Tallo	7.5	7.0	19	12	24	289	2.5	1.9	11.7
	Raíz	8.4	5.0	35	11	12	33	2.6	1.0	10.8
L. stoechas 3	Hojas	18.0	15.5	40	54	30	780	3.4	7.4	18.2
	Tallo	4.5	6.5	16	23	16	211	0.6	3.1	13.1
	Raíz	12.0	10.5	13	30	8	411	0.7	1.6	6.1
T. mastichina 1	Hojas	36.0	11.5	54	80	20	1840	2.2	6.8	8.1
	Tallo	19.0	4.5	19	30	8	511	1.9	1.9	6.0
	Raíz	10.5	8.5	15	55	8	494	1.6	2.0	3.5
T. mastichina 2	Hojas	23.0	14.0	80	76	45	1100	7.9	7.2	6.8
	Tallo	4.5	6.5	15	30	20	278	3.0	1.7	8.4
	Raíz	30.0	12.5	50	100	11	1850	1.3	3.2	2.4
T. mastichina 3	Hojas	7.5	9.5	30	60	40	510	3.1	6.0	17.4
	Raíz	9.5	8.5	17	50	9	383	1.1	1.5	4.2
T. mastichina 4	Hojas	9.8	8.8	70	43	33	426	2.2	4.0	10.3
	Raíz	5.0	11.5	19	19	10	300	1.1	1.4	5.1
T. mastichina 5	Hojas	7.0	8.5	22	32	19	444	0.7	1.8	3.0

**Datos no disponibles*

Tabla 1.5 (Continuación).- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el primer muestreo (Julio, 2000) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co <5 mg kg^{-1} en todas las muestras con la excepción de Co en muetras de hojas de A. serpyllifolium (11-20 mg kg^{-1})).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
Localización UB										
A. serpyllifolium 1	Hojas	13.0	5.0	120	5170	52	655	85.0	6.0	12.4
	Tallo	34.0	4.5	46	1080	45	539	3.6	1.7	8.2
	Raíz	9.5	4.0	20	265	23	239	9.3	1.1	6.9
A. serpyllifolium 2	Hojas	18.3	11.6	140	1267	45	630	92.3	4.0	13.0
	Tallo	8.0	4.0	25	150	29	206	11.4	0.9	8.1
	Raíz	6.6	3.4	30	90	38	204	3.7	0.3	8.7
C. ladanifer 1	Hojas	82.0	7.0	60	34	40	188	3.6	4.2	7.6
	Tallo	14.0	3.0	30	10	16	339	5.9	1.5	3.3
C. ladanifer 2	Hojas	66.0	8.0	60	30	50	145	3.9	4.4	7.0
	Tallo	7.0	3.5	40	10	24	139	13.9	1.3	3.9
C. ladanifer 3	Hojas	128.0	10.0	90	50	50	2700	3.6	6.6	8.6
	Tallo	18.5	4.0	55	15	22	400	12.9	1.8	4.3
C. ladanifer 4	Hojas	104.0	9.0	80	42	50	2150	3.7	6.2	6.4
	Tallo	8.5	3.5	37	9	22	250	2.3	1.1	2.9
C. multiflorum 1	Hojas	20.0	5.0	90	13	20	360	0.9	3.6	4.6
	Tallo	5.0	5.0	28	4	8	117	0.3	1.5	3.1
L. stoechas 1	Hojas	25.5	15.5	225	23	65	589	23.7	5.4	9.1
	Tallo	10.0	5.0	44	10	19	450	1.0	2.2	7.4
	Raíz	7.0	6.0	25	9	17	378	2.0	2.1	2.3
L. stoechas 2	Hojas	51.0	12.0	150	24	40	1360	9.5	5.4	12.0
	Tallo	11.0	6.5	35	7	20	278	3.5	1.7	12.6
	Raíz	20.0	6.0	30	23	18	200	1.1	1.3	4.5
L. stoechas 3	Hojas	28.0	10.0	150	16	40	730	8.9	4.4	14.2
	Tallo	17.0	6.0	45	9	23	361	3.3	2.0	7.7
	Raíz	4.5	10.0	19	5	22	189	3.0	1.7	6.0
T. mastichina 1	Hojas	34.0	11.0	175	180	32	572	16.2	5.1	7.5
	Tallo	15.5	6.0	55	25	12	383	1.4	1.7	7.7
	Raíz	6.0	11.0	45	11	12	339	2.5	1.2	4.9
T. mastichina 2	Hojas	55.5	10.5	168	60	30	1740	5.7	5.4	7.4
	Tallo	13.0	4.5	50	12	10	411	2.9	1.5	5.4
	Raíz	14.0	10.0	50	15	12	472	3.0	1.8	3.9
Localización B										
C. ladanifer 1	Hojas	39.0	15.0	105	12.5	55	3350	1.9	2.1	7.0
	Tallo	26.0	11.0	100	9.5	42	567	14.8	1.4	8.4
	Raíz	3.6	4.0	100	2.5	28	259	8.2	0.3	4.3
C. ladanifer 2	Hojas	9.0	13.0	105	5.5	51	594	9.7	2.1	7.7
	Tallo	8.5	6.0	60	4.0	27	494	13.0	1.0	6.8
	Raíz	3.8	5.6	60	2.3	20	296	7.7	0.7	2.7
C. ladanifer 3	Hojas	9.0	8.0	85	5.5	50	670	4.3	2.0	6.2
	Tallo	5.5	5.5	90	4.5	35	350	4.7	1.1	4.9
	Raíz	*	5.5	120	2.3	20	333	3.3	0.5	2.0
C. multiflorum 1	Hojas	2.3	6.9	70	2.1	20	100	0.6	1.4	4.2
	Tallo	4.5	5.5	70	1.7	19	367	0.5	1.6	3.5
C. multiflorum 2	Hojas	1.7	2.5	65	0.6	20	80	0.5	0.8	4.0
	Tallo	2.3	3.5	30	0.9	20	83	0.8	0.7	3.0
C. multiflorum 3	Hojas	5.0	8.0	60	1.8	20	90	0.7	0.8	6.8
	Tallo	3.5	3.0	35	2.5	12	306	1.0	0.8	7.2
D. gnidium 1	Hojas	3.0	5.0	95	2.5	75	40	5.5	2.8	6.0
	Tallo	1.7	11.5	30	3.0	45	144	3.5	1.7	4.9
D. gnidium 2	Hojas	5.5	6.5	205	4.0	95	45	2.3	1.9	14.9
	Tallo	3.8	15.0	50	3.5	42	94	2.7	0.7	9.1
D. gnidium 3	Hojas	5.0	*	140	*	50	167	6.8	2.4	10.4
	Tallo	3.5	6.5	55	*	35	350	1.3	0.8	6.1

**Datos no disponibles*

Tabla 1.5 (Continuación).- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el primer muestreo (Julio, 2000) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co <5 mg kg^{-1} en todas las muestras con la excepción de Co en muetras de hojas de A. serpyllifolium (11-20 mg kg^{-1})).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
L. stoechas 1	Hojas	9.5	10.0	395	3.5	65	578	17.5	4.0	16.4
	Tallo	5.0	4.5	50	3.0	24	328	3.4	1.3	16.4
	Raíz	5.0	7.5	60	1.9	17	378	1.2	0.8	6.1
L. stoechas 2	Hojas	23.0	17.0	290	8.0	50	1960	8.0	6.0	18.2
	Tallo	10.0	8.0	50	4.0	20	250	3.6	2.0	15.0
	Raíz	2.5	7.5	22	3.0	26	217	0.8	1.2	9.6
L. stoechas 3	Hojas	15.5	18.0	255	6.5	84	1275	18.3	4.2	12.8
	Tallo	5.5	7.0	31	2.5	19	406	1.2	1.5	14.1
T. mastichina 4	Hojas	9.0	19.0	220	6.0	53	1022	8.9	2.8	15.8
	Tallo	10.0	10.5	60	4.5	22	461	6.0	1.2	9.7
	Raíz	5.0	14.5	55	2.5	11	544	2.7	1.1	4.6
Localización M										
C. ladanifer 1	Hojas	7.0	5.0	510	7.0	50	410	4.0	1.4	12.3
	Tallo	5.5	4.0	250	5.5	32	200	3.1	1.7	9.4
C. ladanifer 2	Hojas	8.5	2.5	410	6.5	35	410	4.1	1.6	13.4
	Tallo	2.5	5.0	180	4.5	22	61	21.3	1.3	8.8
C. multiflorum 1	Hojas	0.4	3.0	140	3.5	10	20	0.5	0.8	14.0
	Tallo	2.1	4.5	70	0.8	10	100	0.9	0.5	8.9
C. multiflorum 2	Hojas	0.9	4.5	270	2.5	20	45	0.8	0.9	15.5
	Tallo	0.7	4.5	75	0.6	12	33	0.9	0.7	13.2
C. multiflorum 3	Tallo	0.9	4.0	110	2.5	10	33	1.0	0.6	9.4
D. gnidium 1	Hojas	*	7.0	180	2.5	42	106	9.8	1.9	16.4
	Tallo	3.0	12.0	75	2.5	45	122	1.0	0.8	13.8
D. gnidium 2	Hojas	*	12.5	445	3.5	97	89	12.9	2.0	14.9
	Tallo	0.9	10.0	85	2.5	55	61	1.0	0.9	9.9
L. stoechas 1	Hojas	23.0	10.0	1200	9.5	80	1625	3.2	1.8	27.9
	Tallo	4.0	6.0	140	4.0	25	167	4.1	1.0	17.2
	Raíz	2.6	5.0	60	0.8	28	111	1.1	0.6	7.8
L. stoechas 2	Hojas	8.0	7.0	800	6.5	50	625	3.6	2.0	26.5
	Tallo	11.5	8.5	185	5.5	32	350	4.3	1.4	15.8
	Raíz	1.8	8.0	85	3.5	20	194	0.9	0.6	8.8
T. mastichina 1	Hojas	10.0	8.0	280	8.0	60	878	2.8	3.2	16.0
	Tallo	5.5	8.0	95	3.5	17	356	1.8	1.2	13.1
	Raíz	6.5	23.0	115	5.5	18	417	2.7	1.1	7.4
Localización SC1										
C. ladanifer 1	Hojas	5.5	5.5	345	4.5	65	535	2.1	1.2	11.1
	Tallo	4.5	4.5	200	2.5	40	206	2.3	0.8	9.4
	Raíz	1.9	3.0	170	5.0	25	156	2.9	0.2	1.5
C. ladanifer 2	Hojas	7.0	8.0	380	6.0	90	430	3.8	1.2	8.4
	Tallo	4.5	6.5	190	4.0	46	206	12.5	1.1	7.4
	Raíz	3.5	3.0	175	3.0	22	144	3.4	0.4	3.4
C. ladanifer 3	Hojas	8.0	8.0	205	3.5	69	528	5.3	1.1	9.8
	Tallo	4.5	5.0	190	5.0	45	167	5.2	0.6	8.2
	Raíz	6.0	4.0	183	13.5	33	167	2.9	0.3	3.7
C. ladanifer 4	Hojas	11.0	7.8	440	7.0	50	1170	2.8	1.2	9.8
	Tallo	3.6	7.0	200	2.0	43	228	10.5	0.8	7.8
	Raíz	2.4	4.6	230	1.6	24	300	8.5	0.5	3.2
C. multiflorum 1	Hojas	0.5	4.9	320	0.7	14	20	1.4	0.8	4.8
	Tallo	1.0	4.0	140	0.7	9	50	0.6	0.6	3.7
C. multiflorum 2	Hojas	0.8	8.0	440	1.2	15	*	1.2	1.0	10.0
	Tallo	3.5	6.5	140	1.2	11	161	0.6	0.8	6.7
C. multiflorum 3	Hojas	0.7	4.5	410	3.0	20	35	1.2	1.5	6.6
	Tallo	*	4.0	90	1.8	12	44	0.3	0.6	5.8

**Datos no disponibles*

Tabla 1.5 (Continuación).- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el primer muestreo (Julio, 2000) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co <5 mg kg^{-1} en todas las muestras con la excepción de Co en muetras de hojas de A. serpyllifolium (11-20 mg kg^{-1})).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
L. stoechas 1	Hojas	1.6	3.0	650	3.0	50	180	4.9	2.1	19.2
	Tallo	1.2	6.0	100	2.5	17	61	3.1	1.1	15.6
	Raíz	5.2	8.3	183	16.6	40	278	2.1	0.7	10.0
L. stoechas 2	Hojas	4.0	13.5	2050	7.0	80	430	4.2	1.1	25.5
	Tallo	3.0	5.5	200	2.5	17	133	1.1	0.6	15.5
	Raíz	5.0	7.5	90	6.0	18	422	1.7	0.7	10.3
L. stoechas 3	Hojas	7.0	7.2	980	5.0	50	400	8.4	2.0	16.2
	Tallo	4.0	9.5	165	3.0	24	150	3.2	1.0	15.8
T. mastichina 1	Hojas	2.5	6.0	130	4.0	18	217	1.3	0.6	12.3
	Tallo	4.5	6.0	110	2.5	21	333	3.6	0.7	12.6
	Raíz	3.0	7.5	230	3.5	18	328	3.2	0.9	6.5
T. mastichina 2	Hojas	3.5	6.0	260	6.5	35	283	5.8	1.9	17.4
	Tallo	2.5	5.0	145	3.0	22	200	3.0	1.0	10.3
	Raíz	5.0	10.0	235	5.0	19	294	3.5	1.2	5.4
T. mastichina 3	Hojas	2.4	5.9	370	8.0	30	456	2.1	1.6	21.2
	Tallo	3.5	9.0	130	4.0	16	256	2.6	0.8	11.1
	Raíz	2.5	6.5	115	2.5	14	367	1.7	0.9	6.5
Localización SC2										
C. ladanifer 1	Hojas	1.8	5.4	580	10.0	110	130	2.7	2.0	7.6
	Tallo	3.0	3.0	235	6.5	51	183	12.1	0.8	3.4
	Raíz	4.5	6.0	245	8.5	32	472	14.4	0.6	2.3
C. ladanifer 2	Hojas	7.0	11.5	1350	11.0	205	565	4.7	2.1	9.1
	Tallo	4.5	4.5	310	7.0	76	244	12.6	1.4	7.9
	Raíz	17.0	2.5	215	3.5	31	150	0.4	0.7	2.9
C. ladanifer 3	Hojas	7.0	6.5	960	8.5	98	550	5.5	2.1	9.0
	Tallo	8.3	4.1	310	7.0	60	178	2.3	1.2	7.8
	Raíz	1.4	15.0	290	27.5	36	222	5.5	0.8	2.8
C. ladanifer 4	Hojas	20.0	13.0	1010	15.0	80	1211	1.6	1.8	8.2
	Tallo	3.4	5.6	467	11.6	65	870	8.4	1.3	8.3
	Raíz	4.4	3.3	350	2.5	40	389	5.2	1.0	4.0
C. multiflorum 1	Hojas	7.0	4.0	320	6.0	20	40	0.8	0.8	8.6
	Tallo	2.5	3.0	270	2.5	15	106	2.3	0.6	5.1
	Raíz	3.5	2.5	115	5.5	21	378	0.9	0.9	4.6
L. stoechas 1	Hojas	4.0	3.5	950	8.5	35	325	1.9	1.5	23.5
	Tallo	3.0	5.5	255	4.0	32	144	2.5	0.9	15.6
	Raíz	6.0	7.0	225	27.5	30	417	1.1	0.8	8.0
L. stoechas 2	Hojas	2.5	10.5	1008	8.5	42	317	10.3	1.8	21.0
	Tallo	3.5	6.0	325	4.0	55	133	1.0	1.0	18.2
	Raíz	4.0	6.5	140	5.5	45	361	1.1	0.7	9.6

Tabla 1.6.- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el segundo muestreo (Mayo, 2001) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co no fue detectable excepto en hojas de A. serpyllifolium (Pb: 5-20 / Co: 14-50 mg kg^{-1}) y en P. subulata (Co: 5-35 mg kg^{-1})). (n.d.= No detectado).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
Localización S										
A. serpyllifolium 1	Hojas	27.0	18.0	180	31200	90	2990	179.6	9.6	13.2
	Tallo	4.0	12.0	25	4500	60	245	19.4	2.0	25.0
	Raíz	n.d.	n.d.	11	820	40	110	2.0	0.6	4.8
A. serpyllifolium 2	Hojas	n.d.	8.3	83	5333	83	433	29.2	1.8	1.0
	Tallo	n.d.	3.0	20	530	35	155	9.8	1.2	4.0
A. serpyllifolium 3	Hojas	14.0	10.0	110	14400	50	970	41.0	4.2	25.0
	Tallo	10.0	6.0	30	2800	140	915	25.8	3.6	9.4
	Raíz	11.0	9.0	40	800	40	1180	3.0	1.4	27.8
A. serpyllifolium 4	Hojas	12.5	9.5	95	10800	35	1480	70.6	4.8	8.4
	Tallo	25.5	12.0	85	3000	135	3100	15.3	2.3	25.0
	Raíz	7.0	6.5	25	545	35	750	4.4	1.6	7.9
A. serpyllifolium 5	Hojas	7.0	7.0	90	6800	43	700	77.2	9.6	5.4
	Tallo	4.0	4.5	35	1760	45	490	16.4	2.1	15.1
	Raíz	4.0	4.5	25	965	33	445	10.8	0.8	3.9
A. serpyllifolium 6	Hojas	8.0	7.0	90	6800	90	950	73.6	6.0	8.8
	Tallo	2.5	3.5	25	530	35	380	10.4	1.6	7.0
	Raíz	n.d.	n.d.	10	360	40	135	1.2	0.4	13.1
A. serpyllifolium 7	Hojas	n.d.	10.0	83	1800	12	950	40.7	8.3	6.7
	Tallo	5.0	3.5	35	1500	20	1005	10.8	4.6	8.1
	Raíz	15.0	5.0	60	1600	20	2800	7.0	5.2	7.0
A. serpyllifolium 8	Hojas	n.d.	n.d.	75	3125	25	375	31.8	13.0	7.3
	Tallo	2.5	2.5	25	1035	20	315	9.7	4.6	16.9
	Raíz	n.d.	n.d.	40	740	22	710	5.4	3.0	5.2
A. serpyllifolium 9	Hojas	n.d.	n.d.	90	6200	20	470	45.6	11.2	11.0
	Tallo	5.5	3.0	45	1900	20	650	10.4	4.6	10.0
	Raíz	5.5	3.0	30	750	15	590	2.7	1.8	6.8
A. serpyllifolium 10	Hojas	7.0	n.d.	55	2530	10	1065	23.9	5.6	13.7
	Tallo	2.5	4.0	25	1325	15	355	8.7	2.3	21.6
	Raíz	n.d.	n.d.	33	1133	17	1133	5.3	2.4	5.3
C. ladanifer 1	Hojas	2.5	4.5	130	45	40	430	11.2	4.2	4.6
	Tallo	n.d.	3.5	55	35	25	85	12.0	1.9	25.0
	Raíz	13.0	5.5	55	40	35	520	13.8	0.9	16.7
C. ladanifer 2	Hojas	3.0	4.5	45	40	40	630	7.3	5.4	3.0
	Tallo	2.5	3.5	40	31	30	245	4.9	2.3	2.7
	Raíz	5.5	10.0	65	35	27	475	3.4	1.8	2.2
C. ladanifer 3	Hojas	7.5	6.0	35	40	60	470	3.1	3.6	25.0
	Tallo	9.5	6.5	45	50	40	495	5.0	2.5	25.0
	Raíz	17.0	11.0	80	75	20	640	4.0	2.1	24.3
C. ladanifer 4	Hojas	8.0	5.0	55	45	45	870	5.0	5.4	5.1
	Tallo	4.0	4.5	50	30	50	275	4.6	1.8	25.0
	Raíz	4.5	3.0	35	30	135	345	4.1	1.0	0.9
C. ladanifer 5	Hojas	10.0	5.0	80	40	45	1130	7.3	3.0	2.5
	Tallo	n.d.	3.0	45	25	35	180	5.6	2.0	24.3
	Raíz	8.5	4.5	50	35	140	545	4.6	1.1	2.0
L. stoechas 1	Hojas	44.0	27.5	150	95	35	5600	14.5	11.0	25.0
	Tallo	11.5	7.0	25	35	15	1230	2.6	2.6	4.4
	Raíz	n.d.	12.5	45	50	18	2245	4.2	2.7	2.5

Tabla 1.6 (continuación).- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el segundo muestreo (Mayo, 2001) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co no fue detectable excepto en hojas de A. serpyllifolium (Pb: 5-20 / Co: 14-50 mg kg^{-1}) y en P. subulata (Co: 5-35 mg kg^{-1})). (n.d.= No detectado).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
L. stoechas 2	Hojas	13.0	18.0	70	70	60	580	10.7	6.3	25.0
	Tallo	10.5	9.0	30	40	25	1170	2.4	2.5	16.6
	Raíz	9.5	8.5	30	45	15	1015	0.9	1.3	14.6
L. stoechas 3	Hojas	14.5	16.0	70	40	65	590	7.2	9.5	25.0
	Tallo	5.5	10.0	25	19	30	410	1.5	2.7	25.0
	Raíz	12.0	16.0	35	70	10	560	4.4	1.9	3.2
L. stoechas 4	Hojas	10.0	10.0	90	45	80	1420	12.4	6.9	8.5
	Tallo	2.5	6.5	25	25	75	270	3.5	1.8	4.9
	Raíz	13.5	15.0	45	80	35	1570	2.1	2.1	2.2
P. subulata 1	Hojas	n.d.	10.0	50	28	20	360	5.0	5.2	5.4
	Tallo	20.0	20.0	130	73	70	280	3.4	4.6	4.8
	Raíz	10.0	20.5	90	50	45	1470	5.6	3.8	3.4
P. subulata 2	Hojas	4.5	16.0	75	45	30	426	7.4	4.2	25.0
	Tallo	25.0	21.0	105	50	45	3200	8.6	4.8	6.0
P. subulata 3	Hojas	26.0	19.0	70	80	50	2430	5.4	6.0	8.8
	Tallo	115.0	55.0	330	385	45	17600	8.4	10.0	6.2
	Raíz	30.0	30.0	140	190	50	3200	7.6	4.8	5.4
P. subulata 4	Hojas	9.0	13.0	80	35	20	480	4.7	5.2	25.0
	Tallo	70.0	35.0	190	305	50	7500	6.3	6.0	4.8
	Raíz	30.0	24.5	110	130	65	3000	4.8	3.0	4.3
P. subulata 5	Hojas	n.d.	14.0	50	30	25	225	12.5	2.1	6.6
	Tallo	16.5	25.0	115	65	125	645	6.3	2.4	25.0
	Raíz	18.5	26.0	105	70	90	2100	7.2	2.5	4.7
S. semidentata 1	Hojas	5.0	26.5	135	40	70	525	16.4	4.2	11.0
	Tallo	n.d.	10.5	30	15	25	210	2.7	0.8	25.0
	Raíz	3.0	6.0	20	25	10	245	0.8	0.3	2.7
S. semidentata 2	Hojas	6.5	33.0	55	50	45	495	15.2	5.4	25.0
	Tallo	4.5	10.0	15	16	15	305	2.2	1.3	25.0
	Raíz	26.0	15.5	70	85	10	2800	2.2	2.2	2.5
S. semidentata 3	Hojas	21.0	21.5	115	55	40	2600	11.8	5.1	10.9
	Tallo	5.5	10.5	25	19	25	235	1.7	1.4	25.0
	Raíz	4.0	9.5	20	30	15	285	1.3	0.5	3.8
S. semidentata 4	Hojas	4.0	30.0	85	40	50	675	22.8	2.7	8.7
	Tallo	n.d.	8.5	20	20	21	190	4.3	1.0	4.5
	Raíz	17.0	15.5	65	55	20	1865	2.7	1.5	11.3
T. mastichina 1	Hojas	8.0	12.5	50	65	120	495	4.7	7.8	25.0
	Tallo	2.5	6.5	20	25	20	285	2.6	1.9	4.4
	Raíz	13.5	13.0	30	50	40	520	0.8	1.2	25.0
T. mastichina 2	Hojas	14.5	13.5	75	50	70	1975	9.2	5.4	5.1
	Tallo	7.0	10.0	40	27	60	490	2.4	1.9	25.0
	Raíz	10.5	6.0	50	45	240	465	2.2	2.0	2.0
T. mastichina 3	Hojas	9.0	12.0	50	50	35	1675	6.0	7.5	4.8
	Tallo	11.0	9.5	40	30	25	600	1.6	1.7	25.0
	Raíz	5.0	25.0	30	30	20	300	0.2	0.7	2.2
T. mastichina 4	Hojas	4.5	9.0	45	50	30	950	11.6	10.8	9.8
	Tallo	5.0	7.0	30	21	20	370	1.6	1.4	25.0
	Raíz	12.5	15.0	35	45	15	1025	2.0	1.9	3.3
T. mastichina 5	Hojas	9.0	10.0	85	50	35	1215	9.4	5.4	3.4
	Tallo	8.5	10.0	55	35	25	505	2.5	1.9	25.0
	Raíz	4.0	8.0	25	35	20	360	0.8	0.8	1.6

Tabla 1.6 (continuación).- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el segundo muestreo (Mayo, 2001) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co no fue detectable excepto en hojas de A. serpyllifolium (Pb: 5-20 / Co: 14-50 mg kg^{-1}) y en P. subulata (Co: 5-35 mg kg^{-1})). (n.d.= No detectado).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
Localización UB										
A. serpyllifolium 1	Hojas	n.d.	3.0	65	670	20	150	29.8	2.2	5.2
	Tallo	n.d.	n.d.	25	240	40	80	4.4	1.0	5.1
	Raíz	n.d.	n.d.	15	120	56	90	3.2	0.4	4.6
A. serpyllifolium 2	Hojas	5.0	8.0	130	1630	54	380	46.2	4.8	8.2
	Tallo	4.0	3.5	35	215	45	240	4.4	1.1	5.0
	Raíz	n.d.	2.5	20	145	30	160	4.3	0.5	3.1
A. serpyllifolium 3	Hojas	6.5	6.0	120	2800	255	425	62.2	5.8	9.8
	Tallo	7.5	3.0	25	420	110	360	5.8	1.3	2.7
	Raíz	9.5	2.5	18	315	70	350	2.5	0.7	2.8
C. ladanifer 1	Hojas	45.0	8.5	225	35	70	1270	12.4	5.2	4.5
	Tallo	5.5	4.0	50	15	25	200	10.7	1.8	2.7
	Raíz	n.d.	n.d.	25	3	6	35	3.2	0.4	1.1
C. ladanifer 2	Hojas	20.0	6.5	150	23	52	690	10.2	3.2	4.2
	Tallo	7.5	5.0	90	16	40	270	7.2	1.7	13.3
	Raíz	5.0	n.d.	90	20	22	440	4.0	1.1	2.4
C. ladanifer 3	Hojas	20.0	8.0	260	35	45	715	17.5	4.8	4.9
	Tallo	9.5	4.5	75	15	30	330	12.9	2.4	11.5
C. ladanifer 4	Hojas	26.0	7.5	320	33	85	1215	21.1	5.2	4.7
	Tallo	4.0	4.0	45	11	25	195	15.3	1.5	11.3
	Raíz	n.d.	2.5	40	4	11	125	8.5	0.8	1.7
C. ladanifer 5	Hojas	30.0	8.5	155	35	55	1365	12.6	4.8	3.6
	Tallo	14.5	5.0	65	21	35	525	15.0	2.3	3.5
	Raíz	5.0	3.0	40	9	17	265	4.6	0.6	1.5
L. stoechas 1	Hojas	8.5	11.5	180	17	34	310	17.9	4.8	11.8
	Tallo	8.5	6.0	55	13	15	345	5.2	1.9	6.5
	Raíz	4.5	5.5	50	11	9	230	2.2	1.2	3.9
L. stoechas 2	Hojas	8.0	15.5	210	17	41	285	12.7	3.6	12.4
	Tallo	10.5	5.5	45	25	20	350	3.3	1.9	3.8
	Raíz	2.5	7.0	40	10	8	125	2.1	1.0	3.0
L. stoechas 3	Hojas	12.5	13.5	210	18	50	405	11.1	4.6	12.6
	Tallo	6.0	7.5	65	13	20	205	4.0	2.3	16.6
	Raíz	6.0	6.5	40	13	15	345	1.2	1.6	4.0
L. stoechas 4	Hojas	20.0	9.5	235	25	39	1210	11.9	5.4	6.0
	Tallo	10.0	5.0	55	25	19	545	4.9	2.7	4.8
	Raíz	7.5	4.0	40	20	12	520	1.6	1.6	3.5
L. stoechas 5	Hojas	16.5	10.5	175	25	55	995	14.8	4.5	7.6
	Tallo	10.0	5.5	40	20	19	420	4.4	2.5	5.3
	Raíz	10.0	8.0	45	18	16	645	2.3	1.8	2.8
T. mastichina 1	Hojas	10.0	16.0	165	25	40	330	13.9	4.6	10.9
	Tallo	3.0	8.0	45	15	18	175	4.4	1.5	7.2
	Raíz	3.1	10.2	41	15	6	224	1.4	1.3	3.6
T. mastichina 2	Hojas	6.5	11.0	120	25	30	360	10.2	2.5	12.9
	Tallo	5.5	7.0	45	20	25	305	3.4	1.8	5.9
	Raíz	3.0	8.5	25	10	8	235	1.7	1.8	2.9
T. mastichina 3	Hojas	10.0	7.0	105	20	25	370	12.4	4.0	10.9
	Tallo	10.0	5.0	50	15	15	390	2.7	1.8	3.6
	Raíz	n.d.	6.0	30	4	4	115	2.1	1.3	1.0
T. mastichina 4	Hojas	4.5	10.0	150	26	33	220	13.2	4.6	9.6
	Tallo	2.5	7.0	55	11	15	70	2.7	1.6	5.4
	Raíz	6.5	9.5	110	15	8	350	2.5	1.7	3.0

Tabla 1.6 (continuación).- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el segundo muestreo (Mayo, 2001) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co no fue detectable excepto en hojas de A. serpyllifolium (Pb: 5-20 / Co: 14-50 mg kg^{-1}) y en P. subulata (Co: 5-35 mg kg^{-1})). (n.d.= No detectado).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
T. mastichina 5	Hojas	6.0	9.5	115	24.0	40	255	14.0	4.0	11.2
	Tallo	3.0	6.0	50	9.0	15	125	3.1	1.9	6.6
	Raíz	5.0	11.0	80	20.0	15	400	2.4	1.4	3.0
Localización B										
C. ladanifer 1	Hojas	n.d.	7.5	140	4.0	130	375	7.5	2.3	25.0
	Tallo	n.d.	6.0	45	20.0	55	210	13.0	1.4	5.8
	Raíz	n.d.	5.0	75	7.5	20	435	6.6	0.6	2.8
C. ladanifer 2	Hojas	3.5	10.0	210	3.5	100	400	13.3	1.9	25.0
	Tallo	n.d.	7.5	90	5.5	45	240	10.1	1.1	25.0
	Raíz	3.0	5.5	100	15.0	17	385	8.6	0.3	2.1
C. ladanifer 3	Hojas	8.0	8.5	170	5.5	300	305	12.5	1.5	25.0
	Tallo	n.d.	3.5	45	4.5	30	75	10.0	0.5	3.8
	Raíz	n.d.	9.5	100	5.0	25	230	12.1	0.7	12.4
C. ladanifer 4	Hojas	n.d.	8.0	60	3.0	45	285	9.9	1.8	7.9
	Tallo	5.0	8.0	80	6.0	40	420	17.5	1.1	25.0
	Raíz	n.d.	4.0	50	5.0	15	145	9.2	0.5	9.9
C. ladanifer 5	Hojas	n.d.	7.5	385	10.0	95	200	12.7	2.5	5.7
	Tallo	9.5	6.0	105	3.5	500	75	13.3	0.8	25.0
	Raíz	n.d.	3.0	65	3.0	15	100	3.4	0.5	20.8
L. stoechas 1	Hojas	3.0	10.5	175	5.5	110	635	15.8	3.8	27.4
	Tallo	n.d.	6.0	25	6.0	30	165	3.3	1.3	19.0
	Raíz	n.d.	10.0	33	12.5	25	638	1.5	1.0	5.3
L. stoechas 2	Hojas	2.5	14.0	145	5.0	120	295	15.7	2.6	26.3
	Tallo	n.d.	7.0	25	4.5	50	150	4.7	1.1	8.2
	Raíz	3.0	11.5	25	5.0	20	800	1.2	0.9	14.9
L. stoechas 3	Hojas	3.0	14.5	380	5.5	80	475	16.0	2.2	25.0
	Tallo	n.d.	6.5	35	5.0	15	125	5.2	1.0	23.4
	Raíz	5.0	10.0	70	n.d.	40	630	2.0	0.9	7.6
L. stoechas 4	Hojas	n.d.	9.5	170	3.5	45	365	16.3	2.7	15.6
	Tallo	n.d.	8.0	45	7.5	25	330	7.2	1.8	19.8
	Raíz	6.0	13.5	70	17.0	20	1120	2.7	1.5	6.6
L. stoechas 5	Hojas	n.d.	11.0	225	2.5	30	325	15.7	2.5	15.8
	Tallo	n.d.	10.5	55	3.5	20	170	3.3	0.9	25.0
	Raíz	2.5	13.5	35	2.5	20	410	2.5	0.6	5.8
T. mastichina 1	Hojas	2.5	9.5	135	10.0	50	850	15.3	3.2	10.2
	Tallo	4.0	6.0	50	3.5	25	390	3.1	1.1	6.8
	Raíz	6.0	11.5	85	5.0	15	1150	3.5	1.3	12.7
T. mastichina 2	Hojas	3.0	8.5	140	4.5	55	910	15.0	3.2	10.8
	Tallo	4.0	8.0	65	2.5	65	455	3.3	1.0	25.0
	Raíz	2.5	9.5	50	6.5	20	730	2.2	1.0	12.8
T. mastichina 3	Hojas	n.d.	5.5	190	8.0	55	175	12.6	2.2	12.5
	Tallo	n.d.	5.0	35	3.5	10	150	2.1	0.6	15.3
	Raíz	5.5	8.0	45	5.0	10	415	0.9	0.9	2.4
T. mastichina 4	Hojas	n.d.	6.5	185	5.0	65	250	12.3	2.3	14.1
	Tallo	n.d.	6.0	55	4.0	25	190	2.6	0.7	6.8
	Raíz	n.d.	6.5	30	3.5	15	110	0.9	0.5	2.8
T. mastichina 5	Hojas	n.d.	9.0	220	10.0	25	275	14.7	2.2	14.1
	Tallo	n.d.	5.0	65	5.0	10	230	3.8	0.6	4.3
	Raíz	n.d.	6.0	55	3.0	10	130	1.0	0.4	12.4

Tabla 1.6 (continuación).- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el segundo muestreo (Mayo, 2001) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co no fue detectable excepto en hojas de A. serpyllifolium (Pb: 5-20 / Co: 14-50 mg kg^{-1}) y en P. subulata (Co: 5-35 mg kg^{-1})). (n.d.= No detectado).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
Localización M										
C. ladanifer 1	Hojas	n.d.	6.5	890	6.5	135	225	10.9	1.3	9.2
	Tallo	n.d.	6.5	270	8.5	95	115	12.6	1.7	7.7
C. ladanifer 2	Hojas	4.5	7.0	425	10.0	260	380	15.0	2.0	7.2
	Tallo	n.d.	5.5	190	15.0	105	205	10.9	1.1	5.2
	Raíz	n.d.	5.0	250	10.0	20	250	2.6	0.6	23
C. ladanifer 3	Hojas	n.d.	5.5	435	10.0	55	345	14.8	1.3	6.5
	Tallo	n.d.	5.0	195	5.0	50	100	3.9	0.9	25.0
	Raíz	n.d.	4.5	260	7.0	20	185	3.4	0.5	24.9
C. ladanifer 4	Hojas	2.5	7.5	490	7.5	60	355	13.8	1.8	25.0
	Tallo	n.d.	4.5	220	7.5	35	130	9.6	0.9	25.0
C. ladanifer 5	Hojas	4.0	8.5	800	3.5	95	375	14.8	1.5	25.0
	Tallo	n.d.	6.0	260	5.0	75	135	4.5	1.1	25.0
	Raíz	n.d.	3.5	210	10.0	21	185	3.5	0.6	3.0
L. stoechas 1	Hojas	2.5	15.0	1325	7.0	95	480	12.6	2.0	25.0
	Tallo	n.d.	5.5	150	4.0	25	160	2.3	0.7	5.9
	Raíz	2.5	12.0	340	10.0	20	585	2.0	0.9	5.2
L. stoechas 2	Hojas	n.d.	12.5	910	10.0	50	365	16.2	2.6	17.5
	Tallo	n.d.	8.5	150	4.0	25	100	3.5	0.6	8.8
	Raíz	n.d.	5.0	75	5.0	20	140	0.9	0.5	14.8
L. stoechas 3	Hojas	n.d.	9.0	745	5.0	50	365	11.4	2.6	16.9
	Tallo	n.d.	11.3	188		38	288	4.25	1.5	15.5
	Raíz	n.d.	n.d.	104	20.8	13	521			
L. stoechas 4	Hojas	3.5	13.0	1100	4.5	100	420	17.1	3.4	25.0
	Tallo	n.d.	8.0	145	6.0	30	140	3.8	1.0	21.9
	Raíz	n.d.	6.0	75	3.5	16	200	1.5	0.6	7.0
L. stoechas 5	Hojas	5.5	10.0	745	9.0	105	920	15.0	3.2	24.5
	Tallo	n.d.	8.0	135	9.0	40	220	5.1	1.3	14.1
	Raíz	6.3	11.3	325	8.8	38	638	2.0	1.25	35.5
T. mastichina 6	Hojas	7.0	14.5	320	6.5	145	1300	16.2	4.6	25.0
	Tallo	n.d.	8.5	100	3.0	40	385	3.1	1.1	25.0
	Raíz	2.5	7.5	155	15.0	35	435	3.3	1.3	3.6
Localización SC1										
C. ladanifer 1	Hojas	2.5	7.0	515	4.0	60	670	10.7	1.1	6.9
	Tallo	n.d.	5.5	135	10.0	40	110	6.1	1.1	6.3
	Raíz	4.0	5.0	125	7.0	30	270	2.2	0.7	5.0
C. ladanifer 2	Hojas	n.d.	11.0	340	4.0	75	150	9.3	1.7	25.0
	Tallo	n.d.	5.0	165	15.0	45	85	5.6	1.3	5.7
	Raíz	2.5	3.5	185	10.0	20	265	2.6	0.5	3.5
C. ladanifer 3	Hojas	n.d.	7.0	1100	9.5	145	216	13.6	2.2	25.0
	Tallo	n.d.	3.0	265	3.0	45	35	3.9	0.9	25.0
C. ladanifer 4	Hojas	n.d.	7.0	490	10.0	105	120	10.4	2.6	7.4
	Tallo	n.d.	3.0	225	3.5	40	55	3.7	0.9	2.1
	Raíz	2.5	4.0	140	10.0	30	140	3.7	0.5	8.8
C. ladanifer 5	Hojas	n.d.	6.5	520	4.5	45	105	9.9	1.8	6.9
	Tallo	n.d.	4.0	140	4.5	30	n.d.	3.7	0.9	4.4
	Raíz	n.d.	4.5	135	7.5	30	135	2.6	0.5	1.9

Tabla 1.6 (continuación).- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el segundo muestreo (Mayo, 2001) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co no fue detectable excepto en hojas de A. serpyllifolium (Pb: 5-20 / Co: 14-50 mg kg^{-1}) y en P. subulata (Co: 5-35 mg kg^{-1})). (n.d.= No detectado).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
L. stoechas 1	Hojas	n.d.	7.0	910	6.5	95	250	18.4	5.0	10.7
	Tallo	n.d.	5.5	120	n.d.	20	55	1.8	0.9	25.0
	Raíz	2.5	4.5	95	3.5	25	335	1.6	0.9	4.9
L. stoechas 2	Hojas	n.d.	12.5	600	4.0	95	310	13.5	4.6	25.0
	Tallo	n.d.	7.0	215	n.d.	30	190	3.0	1.2	25.0
	Raíz	8.5	4.5	205	3.0	20	390	2.0	0.8	24.7
L. stoechas 3	Hojas	n.d.	10.0	355	4.0	50	170	17.5	4.5	11.1
	Tallo	n.d.	7.5	185	n.d.	20	75	1.9	1.3	25.0
	Raíz	3.5	6.0	170	3.5	20	425	1.3	0.8	4.0
L. stoechas 4	Hojas	n.d.	11.0	495	4.0	40	205	10.2	4.8	10.8
	Tallo	n.d.	4.5	70	2.5	40	50	2.5	1.0	4.5
	Raíz	n.d.	3.5	60	n.d.	15	225	1.3	0.7	2.5
L. stoechas 5	Hojas	n.d.	10.0	380	3.5	45	190	12.1	4.6	10.8
	Tallo	n.d.	8.0	185	n.d.	25	115	2.5	1.5	25.0
	Raíz	n.d.	7.5	225	2.5	10	150	0.7	0.6	25.0
L. stoechas 6	Hojas	n.d.	9.5	925	10.0	50	425	14.2	3.6	11.9
	Tallo	5.0	4.5	210	n.d.	165	200	1.9	1.0	25.0
	Raíz	n.d.	4.0	35	5.0	8	175	0.6	0.4	2.6
Localización SC2										
C. ladanifer 1	Hojas	n.d.	6.0	1300	20.0	185	125	10.1	1.6	8.4
	Tallo	n.d.	4.5	255	10.0	115	55	8.3	0.9	5.5
	Raíz	n.d.	n.d.	75	2.5	20	40	2.8	0.3	1.5
C. ladanifer 2	Hojas	n.d.	5.5	2000	9.5	220	120	13.1	1.4	9.0
	Tallo	n.d.	3.0	265	15.0	50	45	11.0	0.8	4.2
	Raíz	n.d.	2.5	120	5.0	28	40	3.7	0.3	1.2
C. ladanifer 3	Hojas	n.d.	7.5	825	15.0	135	120	10.9	1.9	8.7
	Tallo	n.d.	4.5	265	12.0	85	115	12.9	1.4	5.5
	Raíz	2.5	2.5	115	n.d.	20	35	3.8	0.3	12.5
C. ladanifer 4	Hojas	n.d.	6.5	540	10.0	85	205	12.7	1.8	10.9
	Tallo	n.d.	5.5	220	10.0	40	70	13.3	1.7	9.7
	Raíz	n.d.	3.5	150	3.5	16	135	5.4	0.6	2.9
C. ladanifer 5	Hojas	n.d.	6.5	455	10.0	70	325	10.4	2.0	8.9
	Tallo	n.d.	5.0	180	11.0	60	205	15.8	1.7	8.3
	Raíz	n.d.	3.0	175	3.0	20	130	6.6	0.6	2.3
L. stoechas 1	Hojas	n.d.	15.0	545	10.0	55	165	13.3	2.6	18.8
	Tallo	n.d.	6.5	120	6.5	35	90	3.2	0.9	9.4
	Raíz	n.d.	7.0	60	5.0	22	45	1.0	0.4	5.1
L. stoechas 2	Hojas	2.5	8.5	1185	9.5	150	130	16.8	2.5	17.5
	Tallo	n.d.	6.5	150	6.0	40	70	3.7	1.3	9.2
	Raíz	20.0	4.5	75	2.5	21	65	1.2	1.0	4.4
L. stoechas 3	Hojas	n.d.	7.5	165	9.0	55	310	14.8	2.3	14.0
	Tallo	n.d.	6.5	40	10.0	40	130	4.7	0.8	12.8
	Raíz	n.d.	6.5	45	3.0	25	80	2.7	0.5	3.8
L. stoechas 4	Hojas	n.d.	11.0	2200	10.0	170	310	15.6	2.6	15.1
	Tallo	n.d.	8.0	285	7.5	45	195	5.8	1.5	11.8
	Raíz	n.d.	5.5	95	3.0	25	55	0.8	0.5	5.1
L. stoechas 5	Hojas	n.d.	10.0	815	10.0	115	120	11.7	2.6	22.2
	Tallo	n.d.	9.0	145	8.5	45	45	5.4	1.2	16.3
	Raíz	n.d.	10.0	130	6.0	29	360	1.6	0.7	7.0

Tabla 1.6 (continuación).- Concentración de metales pesados y macronutrientes en las plantas recolectadas durante el segundo muestreo (Mayo, 2001) en los diferentes puntos (S: serpentinita, UB: ultrabásica, B: básica, M: migmatitas, SC: esquistos). (Pb y Co no fue detectable excepto en hojas de A. serpyllifolium (Pb: 5-20 / Co: 14-50 mg kg^{-1}) y en P. subulata (Co: 5-35 mg kg^{-1})). (n.d.= No detectado).

Muestras		Cr	Cu	Mn	Ni	Zn	Fe	Ca	Mg	K
		mg kg^{-1}						g kg^{-1}		
T. mastichina 1	Hojas	n.d.	7.5	155	11.0	60	120	13.7	1.8	14.5
	Tallo	n.d.	5.5	40	5.5	20	85	3.0	0.7	22.7
	Raíz	n.d.	5.5	25	2.5	11	50	0.8	0.8	5.5
T. mastichina 2	Hojas	n.d.	11.5	485	14.0	125	85	18.9	2.6	13.7
	Tallo	n.d.	8.5	95	7.5	35	45	6.3	1.2	23.5
	Raíz	n.d.	7.5	125	7.0	20	210	1.3	0.6	6.1
T. mastichina 3	Hojas	n.d.	11.0	330	30.0	70	70	17.0	2.2	16.8
	Tallo	n.d.	5.0	80	5.0	30	50	6.6	1.1	11.3
	Raíz	n.d.	n.d.	60	n.d.	11	140	1.2	0.6	2.6
T. mastichina 4	Hojas	n.d.	6.5	165	12.5	42	80	13.1	2.0	15.2
	Tallo	n.d.	5.0	45	5.5	20	55	3.5	0.7	19.9
	Raíz	n.d.	6.0	23	5.0	10	50	0.6	0.4	3.2
T. mastichina 5	Hojas	n.d.	10.0	365	16.0	80	110	17.4	2.0	15.0
	Tallo	n.d.	8.5	65	10.0	20	55	3.5	0.7	19.5
	Raíz	n.d.	9.5	45	n.d.	13	90	1.4	0.4	2.4

ANEXO 2

ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL YACIMIENTO DE RUBIAIS (CAPÍTULO 3)

Tabla 2.1.- Características generales de los suelos recolectados en el yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina) a diferentes profundidades (I= 0-15 cm / II= 15-30 cm). (n.d.= No detectado: N <0.05/ S <0.05/ Al_{CIC} <0.26).

Muestra	pH	pH_{KCl}	%C	%N	%S	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}	Al_{CIC}	CICe
						cmol(+) kg^{-1}					
RE1 (I)	8.4	8.6	2.35	n.d.	0.26	1.00	0.81	0.33	0.03	0.49	2.7
RE1 (II)	8.3	8.3	2.40	n.d.	0.30	0.78	0.87	0.66	0.03	n.d.	2.3
RE2 (I)	8.6	7.5	2.93	n.d.	n.d.	4.55	1.55	0.64	0.13	n.d.	6.9
RE2 (II)	8.5	8.5	2.60	n.d.	n.d.	3.55	1.15	0.63	0.04	n.d.	5.4
RE3 (I)	8.1	7.3	2.26	0.10	n.d.	1.67	0.89	0.73	0.17	n.d.	3.5
RE3 (II)	8.3	8.1	3.20	n.d.	n.d.	23.55	0.67	0.65	0.08	n.d.	25.0
RE4 (I)	8.7	8.6	2.64	n.d.	n.d.	0.89	1.00	0.72	0.03	n.d.	2.6
RE4 (II)	8.8	8.9	2.94	n.d.	n.d.	0.89	1.20	0.34	0.02	0.38	2.8
RE5 (I)	8.7	8.4	2.68	n.d.	n.d.	25.77	1.41	0.50	0.12	n.d.	27.8
RE5 (II)	8.6	8.6	2.55	n.d.	n.d.	3.00	1.11	0.59	0.08	n.d.	4.8
RE6 (I)	8.8	8.6	2.50	n.d.	n.d.	4.55	0.78	0.71	0.04	n.d.	6.1
RE6 (II)	8.8	8.8	2.47	n.d.	n.d.	3.55	1.26	0.81	0.07	n.d.	5.7
RE7 (I)	8.8	8.2	2.19	n.d.	n.d.	19.11	0.78	0.60	0.04	n.d.	20.5
RE7 (II)	8.8	8.6	2.73	n.d.	n.d.	2.22	1.70	0.71	0.05	n.d.	4.7
RE8 (I)	7.3	6.9	0.83	n.d.	n.d.	3.37	0.48	0.84	0.11	n.d.	4.8
RE8 (II)	7.4	7.2	0.44	n.d.	n.d.	14.59	1.83	0.41	0.07	n.d.	16.9
RE9 (I)	6.8	5.5	0.67	0.07	n.d.	0.64	0.40	0.63	0.09	n.d.	1.8
RE9 (II)	7.6	7.1	0.86	n.d.	n.d.	7.41	0.48	0.80	0.04	n.d.	8.7
RE10 (I)	7.3	6.8	1.24	0.05	n.d.	4.66	0.78	1.00	0.06	n.d.	6.5
RE10 (II)	7.4	7.2	1.78	n.d.	0.11	1.09	0.33	0.69	0.03	n.d.	2.1
RE11 (I)	7.2	7.2	1.54	n.d.	0.08	11.00	0.49	0.88	0.10	n.d.	12.5
RE11 (II)	7.4	7.4	1.32	n.d.	0.06	10.73	1.79	0.93	0.11	n.d.	13.6
RE12 (I)	6.4	5.7	0.66	n.d.	n.d.	1.18	0.44	0.60	0.08	n.d.	2.3
RE12 (II)	7.6	7.6	1.13	n.d.	n.d.	12.93	2.05	0.88	0.05	n.d.	15.9
RE13 (I)	6.4	6.3	0.72	n.d.	n.d.	3.39	0.48	0.75	0.05	n.d.	4.7
RE13 (II)	7.8	7.5	1.40	n.d.	0.63	5.23	0.44	0.73	0.03	n.d.	6.4
RE14 (I)	6.4	4.6	0.43	n.d.	n.d.	0.44	0.31	0.90	0.06	n.d.	1.7
RE14 (II)	6.8	4.6	0.27	n.d.	n.d.	0.38	0.26	0.72	0.05	0.27	1.7
RE15 (I)	7.3	7.4	1.20	0.06	n.d.	9.14	1.43	0.89	0.13	n.d.	11.6
RE15 (II)	7.8	7.5	0.88	0.06	n.d.	18.52	1.50	0.87	0.08	n.d.	21.0
RE16 (I)	7.5	7.2	1.45	0.07	n.d.	11.47	1.86	0.69	0.13	n.d.	14.2
RE16 (II)	7.6	7.3	0.93	0.08	n.d.	16.28	2.56	0.95	0.09	n.d.	19.9
RE17 (I)	7.9	7.4	1.45	n.d.	n.d.	16.70	2.19	0.83	0.11	n.d.	19.8
RE17 (II)	7.9	7.5	1.57	n.d.	n.d.	18.74	2.89	0.84	0.11	n.d.	22.6
RE18 (I)	6.1	6.0	1.02	n.d.	n.d.	2.11	1.83	0.96	0.13	n.d.	5.0
RE18 (II)	7.7	7.6	1.06	n.d.	n.d.	16.59	2.52	0.81	0.07	n.d.	20.0
RE19 (I)	6.7	6.2	0.81	0.05	n.d.	2.13	0.36	0.72	0.10	n.d.	3.3
RE19 (II)	7.6	7.2	0.48	n.d.	n.d.	7.61	1.50	0.77	0.06	n.d.	9.9
RE20 (I)	6.6	7.1	0.62	n.d.	n.d.	5.74	0.99	0.56	0.08	n.d.	7.4
RE20 (II)	7.2	7.8	1.14	n.d.	0.12	8.25	0.48	0.67	0.04	n.d.	9.4
RE21 (I)	7.0	6.9	1.02	n.d.	n.d.	5.46	0.49	0.79	0.08	n.d.	6.8
RE21 (II)	7.6	8.0	1.39	n.d.	0.09	13.00	0.49	0.66	0.04	n.d.	14.2
RE22 (I)	7.5	5.6	0.75	n.d.	n.d.	1.22	0.49	1.09	0.13	n.d.	2.9
RE22 (II)	7.3	7.5	1.07	n.d.	n.d.	15.55	2.60	0.66	0.07	n.d.	18.9
RE23 (I)	6.3	4.9	0.91	0.05	n.d.	0.71	0.46	1.04	0.17	n.d.	2.4
RE23 (II)	6.5	4.6	0.64	n.d.	n.d.	0.31	0.33	0.60	0.14	0.27	1.7
RE24 (I)	6.8	5.3	0.49	n.d.	n.d.	0.33	0.27	0.84	0.06	n.d.	1.5
RE24 (II)	6.0	7.0	0.37	n.d.	n.d.	3.10	0.51	1.06	0.07	n.d.	4.7
RE25 (I)	7.1	5.5	0.61	n.d.	n.d.	1.06	0.18	0.91	0.10	n.d.	2.3
RE25 (II)	6.7	5.6	0.40	n.d.	n.d.	1.13	0.48	0.70	0.07	n.d.	2.4
RE26 (I)	7.5	7.2	1.24	n.d.	0.07	9.18	0.49	0.77	0.09	n.d.	10.5
RE26 (II)	7.2	7.3	1.67	n.d.	0.12	14.62	0.48	0.57	0.07	n.d.	15.7
RE27 (I)	7.3	6.6	1.48	0.06	n.d.	5.26	0.91	0.71	0.15	n.d.	7.0
RE27 (II)	7.2	7.0	1.18	n.d.	n.d.	13.62	2.16	0.64	0.08	n.d.	16.5
RE28 (I)	7.2	6.5	1.22	n.d.	n.d.	7.87	0.48	0.71	0.09	n.d.	9.2
RE28 (II)	7.1	6.8	1.72	0.05	n.d.	8.36	0.49	1.01	0.06	n.d.	9.9

Tabla 2.1 (continuación).- Características generales de los suelos recolectados en el yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina) a diferentes profundidades (I= 0-15 cm / II= 15-30 cm). (n.d.= No detectado: N <0.05/ S <0.05/ Al_{ClC} <0.26).

Muestra	pH	pH_{KCl}	%C	%N	%S	Ca_{ClC}	Mg_{ClC}	Na_{ClC}	K_{ClC}	Al_{ClC}	ClCe
						cmol(+) kg^{-1}					
RE29 (I)	5.8	4.6	1.22	0.08	n.d.	0.80	0.42	1.02	0.12	0.35	2.7
RE29 (II)	6.1	4.8	0.73	n.d.	n.d.	0.62	0.37	0.96	0.08	n.d.	2.0
RE30 (I)	6.2	5.8	0.68	n.d.	n.d.	1.22	0.42	0.70	0.08	n.d.	2.4
RE30 (II)	7.2	7.4	0.59	n.d.	n.d.	10.82	0.49	0.57	0.05	n.d.	11.9
RM1 (I)	7.3	7.2	1.27	0.06	n.d.	12.04	2.01	0.66	0.11	n.d.	14.8
RM1 (II)	6.0	7.4	0.89	n.d.	n.d.	17.05	2.67	0.93	0.07	n.d.	20.7
RM2 (I)	6.7	6.9	0.63	n.d.	n.d.	5.39	0.49	0.59	0.07	n.d.	6.5
RM2 (II)	7.7	7.8	4.32	n.d.	n.d.	18.12	3.07	0.67	0.03	n.d.	21.9
RM3 (I)	7.7	7.6	0.80	n.d.	n.d.	13.46	2.16	0.67	0.06	n.d.	16.4
RM4 (I)	7.1	7.3	1.42	n.d.	n.d.	17.28	2.52	1.61	0.09	n.d.	21.5
RM5 (I)	6.8	6.7	1.78	0.07	n.d.	15.21	2.78	0.98	0.31	n.d.	19.3
RM5 (II)	6.5	6.7	2.14	n.d.	0.61	21.18	0.48	0.81	0.15	n.d.	22.6
RM6 (I)	7.5	6.8	1.13	0.06	n.d.	6.41	1.06	0.87	0.14	n.d.	8.5
RM6 (II)	7.4	7.0	0.60	n.d.	n.d.	6.01	0.91	0.95	0.15	n.d.	8.0
RM7 (I)	6.9	7.0	0.90	n.d.	0.28	6.05	0.48	0.93	0.14	n.d.	7.6
RM7 (II)	6.8	7.1	1.45	n.d.	0.46	10.56	0.48	0.91	0.09	n.d.	12.0
RM8 (I)	6.2	5.1	0.19	n.d.	n.d.	0.55	0.35	0.74	0.04	n.d.	1.7
RM9 (I)	7.4	7.8	2.91	n.d.	1.09	17.08	0.49	0.74	0.12	n.d.	18.4

Tabla 2.2.- Concentración total de metales pesados en los suelos recolectados en el yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina) a diferentes profundidades (I= 0-15 cm / II= 15-30 cm). (n.d.= No detectado: Cd <5 / Co <10 / Cr <5 / Ni <10).

Muestra	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
					mg kg^{-1}				
RE1 (I)	24	n.d.	n.d.	60	8.21	1180	n.d.	1690	11300
RE1 (II)	25	n.d.	n.d.	80	7.34	1230	n.d.	1790	13600
RE2 (I)	5	n.d.	5	70	4.51	1410	n.d.	780	1800
RE2 (II)	8	n.d.	6	50	7.08	1260	n.d.	1090	3200
RE3 (I)	6	13	7	40	6.80	1370	29	700	2300
RE3 (II)	10	n.d.	5	90	8.39	1010	14	1690	4000
RE4 (I)	7	n.d.	n.d.	40	3.69	1950	n.d.	670	2800
RE4 (II)	8	n.d.	n.d.	30	4.31	1780	n.d.	680	3800
RE5 (I)	5	n.d.	12	110	6.06	950	n.d.	820	2100
RE5 (II)	5	n.d.	8	120	6.15	980	n.d.	1010	1900
RE6 (I)	5	n.d.	n.d.	70	4.08	1060	n.d.	620	1500
RE6 (II)	5	n.d.	n.d.	60	4.03	1140	n.d.	710	1400
RE7 (I)	6	n.d.	5	80	5.81	1040	n.d.	870	2300
RE7 (II)	6	n.d.	8	80	5.42	1010	n.d.	690	1700
RE8 (I)	n.d.	17	n.d.	33	1.43	1940	29	225	1400
RE8 (II)	n.d.	17	n.d.	30	1.83	1890	28	240	1300
RE9 (I)	n.d.	22	n.d.	26	0.87	1850	34	100	900
RE9 (II)	7	17	7	29	2.94	1420	30	1150	3800
RE10 (I)	7	16	7	33	6.39	1360	29	1210	2800
RE10 (II)	12	n.d.	n.d.	21	4.69	860	n.d.	2980	3800
RE11 (I)	16	23	10	70	15.98	1770	23	1540	9200
RE11 (II)	12	19	16	71	15.06	1400	n.d.	1350	5400
RE12 (I)	n.d.	19	n.d.	27	0.65	1360	34	78	340
RE12 (II)	5	n.d.	n.d.	31	2.81	1260	23	1170	2000
RE13 (I)	12	16	6	54	9.85	1320	27	1810	5100
RE13 (II)	26	12	5	50	7.94	1030	17	3730	11300

Tabla 2.2 (continuación).- Concentración total de metales pesados en los suelos recolectados en el yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina) a diferentes profundidades (I= 0-15 cm / II= 15-30 cm). (n.d.= No detectado: Cd <5 / Co <10 / Cr <5 / Ni <10).

Muestra	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
					mg kg^{-1}				
RE14 (I)	n.d.	24	n.d.	32	0.39	1910	32	48	4400
RE14 (II)	n.d.	23	n.d.	29	0.34	1580	32	47	1300
RE15 (I)	7	17	7	35	7.54	1840	25	590	4400
RE15 (II)	n.d.	19	5	33	5.90	1940	25	700	2400
RE16 (I)	5	18	8	27	9.88	2120	28	320	3000
RE16 (II)	6	24	8	33	3.97	2260	32	500	2800
RE17 (I)	5	11	7	89	3.92	1650	28	560	2000
RE17 (II)	5	14	7	100	3.00	1560	21	370	1400
RE18 (I)	n.d.	22	6	36	0.82	1560	20	100	600
RE18 (II)	6	16	10	97	4.44	1350	27	670	1900
RE19 (I)	n.d.	20	5	25	0.69	1390	32	130	1000
RE19 (II)	n.d.	18	5	45	1.26	1360	28	200	1800
RE20 (I)	n.d.	17	7	38	4.72	1100	28	480	2300
RE20 (II)	13	12	5	34	3.67	860	16	1210	5200
RE21 (I)	11	17	14	34	7.42	1460	29	580	5200
RE21 (II)	14	10	7	41	7.15	1080	16	800	5400
RE22 (I)	n.d.	22	15	37	0.56	1230	36	89	800
RE22 (II)	n.d.	16	12	43	2.52	1070	23	550	1500
RE23 (I)	n.d.	25	18	34	0.43	1600	41	70	540
RE23 (II)	n.d.	24	21	39	0.28	1200	37	46	420
RE24 (I)	n.d.	21	5	26	0.51	1060	40	57	900
RE24 (II)	n.d.	17	5	53	0.92	1590	28	153	900
RE25 (I)	n.d.	20	5	28	1.05	2000	31	87	500
RE25 (II)	n.d.	16	7	26	0.66	2220	30	50	520
RE26 (I)	8	19	13	34	3.93	1440	30	950	3900
RE26 (II)	14	19	10	45	8.84	1190	29	1330	4600
RE27 (I)	n.d.	19	5	23	1.31	1830	32	170	2000
RE27 (II)	n.d.	14	n.d.	28	2.11	1550	14	280	1000
RE28 (I)	5	18	5	28	4.47	1590	28	367	1100
RE28 (II)	n.d.	13	n.d.	31	4.32	1470	23	660	1200
RE29 (I)	n.d.	19	6	26	0.35	1460	32	55	520
RE29 (II)	n.d.	19	5	24	0.32	1500	32	53	390
RE30 (I)	n.d.	19	6	23	0.49	1760	32	71	900
RE30 (II)	5	17	7	28	1.69	1600	17	290	2500
RM1 (I)	7	19	10	130	7.08	2480	29	450	3200
RM1 (II)	7	19	n.d.	107	5.52	2680	21	380	2300
RM2 (I)	n.d.	21	8	33	1.26	1320	33	84	1100
RM2 (II)	22	17	n.d.	67	6.77	730	23	990	6600
RM3 (I)	7	20	5	106	2.90	3500	32	3440	2400
RM4 (I)	10	19	7	91	12.47	1880	23	1250	4000
RM5 (I)	14	22	11	41	5.29	1180	25	2270	4900
RM5 (II)	38	22	17	71	11.97	830	21	4490	25500
RM6 (I)	n.d.	21	11	38	3.96	1570	32	250	900
RM6 (II)	n.d.	27	14	35	3.54	1670	39	130	900
RM7 (I)	22	20	10	160	24.75	1970	19	3990	9200
RM7 (II)	35	27	8	102	22.14	2360	22	4210	18000
RM8 (I)	62	25	10	26	3.04	5800	26	76	700
RM9 (I)	91	23	7	71	24.84	1330	24	6100	52000

Tabla 2.3.- Concentración de la fracción biodisponible (extraíble en EDTA) de metales pesados en los suelos recolectados en el yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina) a diferentes profundidades (I= 0-15 cm / II= 15-30 cm). (n.d.= No detectado: Cd <0.25 / Cr < 0.50).

Muestra	Cd_{EDTA}	Co_{EDTA}	Cr_{EDTA}	Cu_{EDTA}	Mn_{EDTA}	Ni_{EDTA}	Pb_{EDTA}	Zn_{EDTA}
				mg kg^{-1}				
RE1 (I)	6.65	3.40	0.55	29.0	445	2.30	1000	1450
RE1 (II)	5.30	2.60	0.75	22.0	295	2.00	1200	1350
RE2 (I)	3.10	2.20	n.d.	40.0	330	1.65	500	875
RE2 (II)	4.35	2.95	0.65	34.5	365	1.95	650	1200
RE3 (I)	2.80	3.60	n.d.	10.5	250	2.05	400	925
RE3 (II)	4.55	2.60	0.75	23.0	245	2.05	1425	1100
RE4 (I)	3.20	2.55	n.d.	11.0	495	2.00	425	975
RE4 (II)	3.05	2.65	0.50	11.5	435	2.25	625	925
RE5 (I)	4.10	3.05	0.95	85.5	340	2.35	675	1225
RE5 (II)	4.10	3.15	1.05	93.5	305	2.50	925	1150
RE6 (I)	2.60	2.15	0.55	39.5	335	1.75	450	850
RE6 (II)	2.50	2.30	0.70	38.0	280	1.85	500	775
RE7 (I)	3.70	2.50	0.55	56.5	325	1.85	650	1125
RE7 (II)	3.85	2.65	0.75	61.0	350	1.95	525	1075
RE8 (I)	1.35	4.95	n.d.	14.0	610	2.30	199	650
RE8 (II)	1.05	4.55	n.d.	12.0	535	2.00	202	500
RE9 (I)	n.d.	4.90	n.d.	3.0	545	2.10	49	50
RE9 (II)	0.95	3.80	n.d.	10.5	390	2.05	1050	700
RE10 (I)	2.65	3.20	n.d.	8.5	150	1.35	900	1100
RE10 (II)	1.60	1.55	0.90	7.0	125	1.85	2050	800
RE11 (I)	8.50	3.90	0.45	42.0	350	2.45	900	3825
RE11 (II)	7.50	4.40	0.50	36.5	420	2.25	900	3450
RE12 (I)	0.40	6.50	n.d.	4.5	640	3.90	44	65
RE12 (II)	1.50	3.20	0.50	19.0	490	2.45	900	800
RE13 (I)	3.00	2.95	n.d.	22.0	280	1.30	1050	2250
RE13 (II)	3.50	3.20	0.50	36.0	195	2.10	1500	2000
RE14 (I)	0.25	4.90	n.d.	2.4	500	1.30	5	12
RE14 (II)	n.d.	3.75	n.d.	2.2	340	1.25	5	12
RE15 (I)	2.50	6.00	n.d.	9.0	635	3.45	520	1800
RE15 (II)	2.50	6.00	n.d.	10.0	575	3.50	435	1600
RE16 (I)	2.60	6.00	n.d.	9.5	895	3.80	253	1350
RE16 (II)	2.40	5.00	n.d.	9.5	630	3.10	253	1300
RE17 (I)	1.90	4.00	n.d.	54.0	580	2.70	354	750
RE17 (II)	2.25	5.35	0.60	81.5	685	3.40	298	1150
RE18 (I)	0.40	8.00	n.d.	7.5	805	3.15	72	110
RE18 (II)	2.50	4.90	0.55	78.0	140	2.60	600	1350
RE19 (I)	0.40	7.50	n.d.	9.0	740	3.15	91	95
RE19 (II)	0.80	5.10	n.d.	33.0	510	2.45	242	350
RE20 (I)	1.05	4.25	n.d.	12.5	465	1.75	347	600
RE20 (II)	1.95	4.30	n.d.	19.0	435	2.10	800	1200
RE21 (I)	6.00	4.15	n.d.	13.5	890	1.60	408	2350
RE21 (II)	5.00	3.40	n.d.	38.0	355	2.20	750	2700
RE22 (I)	0.30	4.35	n.d.	4.5	315	1.30	45	90
RE22 (II)	1.70	4.30	n.d.	27.0	365	1.90	476	700
RE23 (I)	n.d.	5.50	n.d.	4.0	535	2.00	13	16
RE23 (II)	n.d.	4.70	n.d.	3.6	380	1.20	7	8
RE24 (I)	0.30	7.50	n.d.	6.5	340	3.95	17	26
RE24 (II)	0.60	5.50	n.d.	41.5	980	3.30	136	250
RE25 (I)	0.35	4.90	n.d.	3.7	695	2.30	44	85
RE25 (II)	n.d.	3.65	n.d.	2.2	655	1.75	16	28
RE26 (I)	1.90	3.45	n.d.	8.0	335	2.30	392	1450
RE26 (II)	3.00	4.80	n.d.	9.0	200	2.90	650	1900
RE27 (I)	0.60	4.70	n.d.	6.0	590	2.15	137	225
RE27 (II)	1.00	4.35	n.d.	11.5	580	2.10	280	400

Tabla 2.3 (continuación).- Concentración de la fracción biodisponible (extraíble en EDTA) de metales pesados en los suelos recolectados en el yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina) a diferentes profundidades (I= 0-15 cm / II= 15-30 cm). (n.d.= No detectado: Cd <0.25 / Cr < 0.50).

Muestra	Cd_{EDTA}	Co_{EDTA}	Cr_{EDTA}	Cu_{EDTA}	Mn_{EDTA}	Ni_{EDTA}	Pb_{EDTA}	Zn_{EDTA}
				mg kg^{-1}				
RE28 (I)	0.75	4.35	n.d.	11.0	320	2.40	309	350
RE28 (II)	1.35	3.40	n.d.	23.5	485	2.10	850	650
RE29 (I)	n.d.	2.45	n.d.	2.4	195	1.10	15	17
RE29 (II)	n.d.	3.65	n.d.	2.8	310	1.00	9	10
RE30 (I)	n.d.	3.10	n.d.	2.7	355	1.60	20	28
RE30 (II)	0.70	2.75	n.d.	6.0	295	1.45	177	300
RM1 (I)	3.00	6.00	n.d.	29.0	1330	3.65	330	1450
RM1 (II)	3.00	6.50	n.d.	22.5	990	4.40	334	1500
RM2 (I)	0.50	7.00	n.d.	4.5	550	2.55	37	130
RM2 (II)	3.50	4.55	0.60	12.5	220	3.60	1000	2300
RM3 (I)	1.50	5.35	n.d.	10.5	925	3.50	155	800
RM4 (I)	4.00	5.50	n.d.	30.5	630	4.05	600	2450
RM5 (I)	3.00	7.50	n.d.	16.0	620	2.65	675	1550
RM5 (II)	5.50	6.00	0.55	18.5	290	4.25	2175	3600
RM6 (I)	0.85	5.50	n.d.	8.0	965	2.70	85	260
RM6 (II)	0.65	4.60	n.d.	7.0	550	2.00	66	160
RM7 (I)	9.50	3.25	n.d.	30.0	205	2.25	3100	5400
RM7 (II)	6.50	4.00	0.50	28.0	510	3.05	2625	3375
RM8 (I)	0.50	6.50	n.d.	3.8	970	2.70	54	130
RM9 (I)	13.50	2.90	1.20	12.5	95	2.25	3690	4500

Tabla 2.4.- Concentración de diferentes fracciones de metales pesados en los suelos recolectados en algunos puntos de muestreo seleccionados en el yacimiento de Rubiais. (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina) (I= 0-15 cm / II= 15-30 cm). (n.d.= No detectado).

Muestra	Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
				mg kg^{-1}				
Soluble y cambiable								
RE1-I	2.4	0.2	n.d.	1.6	10.2	n.d.	8.8	290.0
RE3-II	1.4	0.4	n.d.	0.8	7.2	n.d.	21.8	59.0
RE4-II	1.0	0.8	n.d.	1.0	14.8	n.d.	2.6	170.0
RE5-II	2.8	0.6	n.d.	4.8	0.2	n.d.	13.6	88.8
RE7-I	1.6	0.8	n.d.	1.6	0.4	n.d.	2.6	80.8
RE7-II	1.4	0.2	n.d.	2.0	11.2	n.d.	3.0	91.4
RE8-II	0.4	0.8	n.d.	0.4	7.6	n.d.	0.4	9.2
RE 10-II	1.0	0.6	n.d.	0.2	3.6	n.d.	217.8	204.0
RE13-II	1.6	0.4	n.d.	1.0	9.0	n.d.	25.4	210.0
RE 15-II	0.2	0.6	n.d.	0.2	4.2	n.d.	1.4	45.4
RE16-I	0.6	0.8	n.d.	0.2	8.0	n.d.	0.8	26.0
RE16-II	0.6	0.4	n.d.	0.2	3.4	n.d.	0.2	26.4
RE19-I	0.4	0.6	n.d.	n.d.	32.2	n.d.	0.8	3.4
RE 19-II	n.d.	1.2	n.d.	0.4	12.0	n.d.	1.6	5.4
RE21-I	1.4	1.4	n.d.	0.4	14.4	n.d.	2.6	230.0
RE21-II	1.6	0.6	n.d.	0.8	12.6	n.d.	7.0	188.0
RE22-I	n.d.	0.8	n.d.	n.d.	50.2	n.d.	1.2	15.0
RE22-II	0.8	0.8	n.d.	0.4	13.4	n.d.	2.6	24.6
RE24-I	n.d.	0.8	n.d.	n.d.	53.8	n.d.	0.8	4.2
RE24-II	n.d.	0.8	n.d.	0.2	11.8	n.d.	1.4	3.4
RE26-I	0.6	0.2	n.d.	0.2	11.0	n.d.	2.8	37.8
RE26-II	1.0	0.4	n.d.	0.2	9.4	n.d.	5.2	77.4
RE28-I	0.2	0.6	n.d.	0.2	15.8	n.d.	8.0	16.4
RE28-II	0.4	0.4	n.d.	0.2	7.8	n.d.	0.4	27.4
RE30-I	n.d.	0.6	n.d.	n.d.	30.4	n.d.	0.6	2.0
RE30-II	0.2	1.0	n.d.	n.d.	2.6	n.d.	0.6	4.6
RM1-I	0.4	0.2	n.d.	0.4	5.0	n.d.	0.6	23.8
RM1-II	0.4	0.4	n.d.	0.2	3.2	n.d.	0.6	24.2
RM6-I	0.2	0.2	n.d.	0.2	8.8	n.d.	0.4	4.6
RM6-II	n.d.	0.2	n.d.	0.2	3.8	n.d.	0.4	2.8
RM7-I	2.8	0.4	n.d.	0.4	4.2	n.d.	63.6	290.0
RM7-II	2.0	0.4	n.d.	0.6	10.0	n.d.	47.2	20.6
RM8	n.d.	0.2	n.d.	0.2	22.6	n.d.	1.0	19.8
RM9	3.6	0.2	n.d.	0.4	2.2	n.d.	88.4	284.0
Carbonatos								
RE1-I	4.6	2.6	n.d.	16.2	452	2.4	741	2210
RE3-II	3.6	2.2	n.d.	9.6	263	3.0	538	1041
RE4-II	1.8	1.8	n.d.	5.6	567	3.0	122	930
RE5-II	1.6	2.4	n.d.	44.0	390	2.8	406	1011
RE7-I	2.2	1.6	n.d.	30.6	450	2.2	537	919
RE7-II	2.6	2.0	n.d.	28.8	487	2.2	127	1009
RE8-II	0.8	3.0	n.d.	6.2	514	2.6	62	391
RE 10-II	1.0	0.8	n.d.	3.0	156	n.d.	2132	496
RE13-II	2.4	2.2	n.d.	22.4	297	2.2	1335	1390
RE 15-II	2.4	2.4	n.d.	2.4	440	3.0	369	1055
RE16-I	1.4	n.d.	n.d.	0.8	376	2.6	11	774
RE16-II	1.4	0.8	n.d.	1.4	315	2.4	26	874
RE19-I	0.1	0.4	n.d.	2.2	268	2.4	12	81
RE 19-II	1.0	2.0	n.d.	17.8	480	2.6	63	195
RE21-I	1.4	3.8	n.d.	5.4	626	2.0	124	1570
RE21-II	4.2	2.4	n.d.	21	479	2.6	193	2012
RE22-I	0.5	0.2	n.d.	1.0	64	n.d.	4	85
RE22-II	0.8	3.8	n.d.	11.4	587	2.6	265	515
RE24-I	0.5	n.d.	n.d.	2.0	62	2.0	4	20
RE24-II	0.5	n.d.	n.d.	22.2	210	2.0	20	225
RE26-I	1.4	3.4	n.d.	2.0	481	2.8	88	962
RE26-II	2.4	3.2	n.d.	2.0	333	3.2	395	1423

Tabla 2.4 (continuación).- Concentración de diferentes fracciones de metales pesados en los suelos recolectados en algunos puntos de muestreo seleccionados en el yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina) (I= 0-15 cm / II= 15-30 cm). (n.d.= No detectado).

Muestra	Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
				mg kg^{-1}				
RE28-I	1.2	3.8	n.d.	2.6	604	2.6	144	284
RE28-II	1.2	3.0	n.d.	10.6	496	2.8	420	373
RE30-I	0.5	0.4	n.d.	0.5	74	n.d.	4	22
RE30-II	0.3	3.0	n.d.	2.6	585	3.2	59	283
RM1-I	2.2	0.8	n.d.	3.2	325	2.0	18	876
RM1-II	2.0	0.6	n.d.	3.8	423	2.6	15	976
RM6-I	0.3	0.3	n.d.	0.8	103	2.0	10	157
RM6-II	0.5	0.3	n.d.	0.8	86	n.d.	5	129
RM7-I	7.0	2.0	n.d.	10.6	260	2.2	1816	2910
RM7-II	5.2	2.2	n.d.	9.8	308	2.8	1543	3979
RM8	0.5	0.3	n.d.	0.3	25	n.d.	4	80
RM9	8.4	1.6	n.d.	2.2	68	3.0	1502	4216
Óxidos de Fe y Mn								
RE1-I	n.d.	n.d.	n.d.	1.4	186	n.d.	43	264
RE3-II	1.0	1.0	n.d.	1.4	186	n.d.	203	400
RE4-II	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	282	n.d.	48	186
RE5-II	n.d.	1.4	n.d.	10.6	252	2.0	97	300
RE7-I	n.d.	n.d.	n.d.	2.2	216	n.d.	43	246
RE7-II	n.d.	n.d.	n.d.	5.2	210	n.d.	38	216
RE8-II	n.d.	4.0	n.d.	3.8	920	2.4	95	120
RE 10-II	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	138	n.d.	187	66
RE13-II	n.d.	1.0	n.d.	n.d.	222	n.d.	33	168
RE 15-II	1.0	6.0	n.d.	1.0	1240	4.0	106	400
RE16-I	1.4	7.0	n.d.	n.d.	1440	3.6	83	480
RE16-II	1.2	7.6	n.d.	1.8	1520	3.8	142	440
RE19-I	n.d.	6.6	n.d.	2.0	860	n.d.	64	42
RE 19-II	n.d.	4.4	n.d.	9.2	720	2.8	80	120
RE21-I	n.d.	2.4	n.d.	n.d.	552	n.d.	52	258
RE21-II	n.d.	1.0	n.d.	n.d.	300	n.d.	38	23-)
RE22-I	n.d.	8.6	n.d.	2.0	840	4.0	40	40
RE22-II	n.d.	2.2	n.d.	1.0	324	n.d.	46	96
RE24-I	n.d.	7.4	n.d.	3.2	680	3.4	16	20
RE24-II	n.d.	6.0	n.d.	11.6	1240	3.0	97	60
RE26-I	n.d.	4.4	n.d.	1.0	680	2.4	92	240
RE26-II	n.d.	4.0	n.d.	n.d.	534	2.6	119	400
RE28-I	n.d.	2.6	n.d.	n.d.	582	n.d.	40	48
RE28-II	n.d.	1.4	n.d.	1.2	450	n.d.	60	54
RE30-I	n.d.	8.0	n.d.	1.4	1280	3.8	30	12
RE30-II	n.d.	4.4	n.d.	1.0	760	2.2	77	80
RM1-I	1.8	7.2	n.d.	3.0	1940	3.8	131	520
RM1-II	2.0	8.2	n.d.	3.4	1780	6.4	64	420
RM6-I	n.d.	7.8	n.d.	1.2	1040	4.0	59	140
RM6-II	n.d.	8.4	n.d.	2.0	1080	3.8	47	100
RM7-I	2.2	6.8	n.d.	2.4	1400	n.d.	1012	1000
RM7-II	2.0	6.0	n.d.	n.d.	1420	2.2	1000	980
RM8	n.d.	8.4	n.d.	1.8	2860	3.8	53	60
RM9	2.8	2.8	n.d.	n.d.	558	n.d.	640	1100
Sulfuros y materia orgánica								
RE1-I	3.25	2.5	n.d.	20.0	225	3.25	358	1750
RE3-II	n.d.	n.d.	n.d.	18.3	235	n.d.	310	625
RE4-II	n.d.	n.d.	n.d.	9.5	310	n.d.	128	338
RE5-II	n.d.	n.d.	n.d.	23.5	235	n.d.	184	350
RE7-I	n.d.	n.d.	n.d.	17.8	228	n.d.	191	1000
RE7-II	n.d.	n.d.	n.d.	16.8	230	n.d.	132	175
RE8-II	n.d.	n.d.	2.8	4.0	143	n.d.	51	105
RE 10-II	1.25	n.d.	n.d.	11.8	235	n.d.	318	625
RE13-II	4.50	n.d.	n.d.	17.8	203	n.d.	930	2125
RE 15-II	n.d.	n.d.	n.d.	9.8	183	2.50	220	625

Tabla 2.4 (continuación).- Concentración de diferentes fracciones de metales pesados en los suelos recolectados en algunos puntos de muestreo seleccionados en el yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina) (I= 0-15 cm / II= 15-30 cm). (n.d.= No detectado).

Muestra	Cd	Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
				mg kg^{-1}				
RE16-I	1.50	n.d.	n.d.	7.8	235	3.00	207	625
RE16-II	n.d.	n.d.	n.d.	7.8	240	n.d.	215	625
RE19-I	n.d.	n.d.	n.d.	3.8	118	n.d.	52	93
RE 19-II	n.d.	n.d.	n.d.	5.8	100	n.d.	49	113
RE21-I	3.25	n.d.	2.5	3.8	195	n.d.	178	1375
RE21-II	n.d.	n.d.	n.d.	13.8	188	n.d.	242	438
RE22-I	n.d.	n.d.	n.d.	1.8	178	3.25	42	70
RE22-II	n.d.	n.d.	n.d.	4.5	73	n.d.	170	375
RE24-I	n.d.	n.d.	n.d.	1.3	85	n.d.	24	33
RE24-II	n.d.	n.d.	n.d.	3.5	90	n.d.	30	38
RE26-I	1.25	n.d.	n.d.	6.0	240	2.50	207	625
RE26-II	4.75	2.5	3.0	6.0	160	n.d.	270	1625
RE28-I	n.d.	n.d.	n.d.	5.3	213	n.d.	151	338
RE28-II	n.d.	n.d.	n.d.	5.3	220	n.d.	123	90
RE30-I	n.d.	n.d.	n.d.	2.3	185	n.d.	14	65
RE30-II	2.00	n.d.	n.d.	4.5	170	n.d.	136	1125
RM1-I	1.25	n.d.	n.d.	27.3	208	2.75	260	500
RM1-II	n.d.	n.d.	4.0	25.8	225	4.25	264	625
RM6-I	n.d.	n.d.	n.d.	8.0	143	3.50	61	313
RM6-II	n.d.	n.d.	4.5	5.8	175	3.25	48	238
RM7-I	9.25	n.d.	n.d.	25.0	170	n.d.	968	4625
RM7-II	13.00	3.0	n.d.	23.0	218	n.d.	1200	6625
RM8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	248	n.d.	18	188
RM9	32.50	4.5	3.0	23.8	178	3.50	3540	10125

Tabla 2.5.- Concentración de metales pesados en las hojas de las plantas recolectadas en los distintos puntos de muestreo del yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina). (n.d.= No detectado: Co, Cr, Ni <5 mg kg^{-1} / Hg <0.01 mg kg^{-1}).

Especie	Punto de recogida	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
		mg kg^{-1}								
Betula celtibérica	RE4	0.64	n.d.	n.d.	8	0.03	49	n.d.	0.24	440
Betula celtibérica	RE5	1.15	n.d.	n.d.	8	0.08	42	6	0.78	520
Betula celtibérica	RE6	0.96	n.d.	n.d.	9	0.04	26	8	0.44	410
Betula celtibérica	RE7	0.82	n.d.	n.d.	6	0.01	200	n.d.	0.35	400
Betula celtibérica	RE8	1.98	n.d.	n.d.	6	0.04	710	9	0.78	700
Betula celtibérica	RE11	2.23	n.d.	n.d.	7	0.11	140	n.d.	0.40	700
Betula celtibérica	RE12	1.84	n.d.	n.d.	15	0.01	760	n.d.	0.54	380
Betula celtibérica	RE14	1.43	n.d.	n.d.	14	0.07	2350	10	0.61	410
Betula celtibérica	RE18	1.19	n.d.	n.d.	13	0.02	800	9	0.51	510
Betula celtibérica	RE19	0.93	n.d.	n.d.	8	0.01	1080	9	0.44	340
Betula celtibérica	RE22	0.88	n.d.	7	13	0.02	670	n.d.	0.61	470
Betula celtibérica	RE23	0.63	n.d.	n.d.	13	0.05	580	n.d.	0.49	470
Betula celtibérica	RE24	0.99	n.d.	n.d.	14	0.09	760	9	1.52	420
Betula celtibérica	RE25	0.91	n.d.	n.d.	11	0.07	680	n.d.	0.60	400
Betula celtibérica	RE26	1.16	n.d.	n.d.	6	0.01	450	9	0.52	490
Betula celtibérica	RE28	0.50	n.d.	n.d.	5	0.05	1020	5	0.58	450
Betula celtibérica	RE29	0.55	n.d.	n.d.	8	0.08	1200	6	0.58	400
Betula celtibérica	RM7	3.42	n.d.	n.d.	5	0.07	49	5	6.76	600
Betula celtibérica	RM8	0.86	n.d.	n.d.	5	0.02	21	n.d.	1.02	400
Cytisus multiflorum	RE5	0.11	n.d.	n.d.	5	0.10	180	n.d.	0.43	48
Cytisus multiflorum	RE9	0.66	n.d.	n.d.	6	0.04	790	9	0.90	110
Cytisus multiflorum	RE10	0.63	n.d.	n.d.	5	0.02	310	n.d.	0.46	130
Cytisus multiflorum	RE11	0.27	n.d.	n.d.	5	0.03	460	6	0.30	160
Cytisus multiflorum	RE12	0.39	n.d.	n.d.	7	0.02	970	8	0.68	140
Cytisus multiflorum	RE13	0.26	n.d.	n.d.	3	0.02	430	5	0.29	170
Cytisus multiflorum	RE14	0.49	n.d.	n.d.	11	0.03	2410	9	0.56	44
Cytisus multiflorum	RE15	0.56	n.d.	n.d.	5	0.07	300	n.d.	0.67	330
Cytisus multiflorum	RE20	0.18	n.d.	n.d.	8	0.02	150	n.d.	0.46	80
Cytisus multiflorum	RE21	0.12	n.d.	n.d.	7	0.11	360	n.d.	0.01	90
Cytisus multiflorum	RE25	0.19	n.d.	n.d.	9	0.07	520	5	0.29	41
Cytisus multiflorum	RE26	0.19	n.d.	n.d.	6	0.02	190	n.d.	0.27	80
Cytisus multiflorum	RE27	0.10	n.d.	n.d.	8	0.08	320	9	0.72	45
Cytisus multiflorum	RE28	0.09	n.d.	n.d.	15	0.08	230	n.d.	0.95	47
Cytisus multiflorum	RE30	0.24	n.d.	n.d.	6	0.07	350	7	0.20	80
Cytisus multiflorum	RM1	0.83	n.d.	n.d.	5	0.02	230	n.d.	0.41	160
Cytisus multiflorum	RM2	0.30	n.d.	n.d.	9	0.03	260	n.d.	0.67	80
Cytisus multiflorum	RM8	0.52	n.d.	n.d.	15	0.04	490	n.d.	1.82	130
Cytisus scoparius	RE2	0.14	n.d.	n.d.	7	0.07	80	n.d.	0.51	130
Cytisus scoparius	RE3	0.67	n.d.	n.d.	8	0.04	380	n.d.	0.75	190
Cytisus scoparius	RE5	0.21	n.d.	8	7	0.03	110	n.d.	0.37	80
Cytisus scoparius	RE7	1.90	n.d.	n.d.	7	0.08	140	n.d.	14.52	400
Cytisus scoparius	RE8	0.29	n.d.	n.d.	15	0.06	720	n.d.	1.28	270
Cytisus scoparius	RE9	0.66	n.d.	n.d.	8	0.06	1300	9	1.19	100
Cytisus scoparius	RE10	0.47	n.d.	n.d.	11	0.02	240	5	1.20	220
Cytisus scoparius	RE11	1.46	n.d.	n.d.	8	0.11	330	6	0.45	260
Cytisus scoparius	RE13	0.45	n.d.	n.d.	8	0.01	560	6	0.23	120
Cytisus scoparius	RE14	0.43	n.d.	n.d.	15	0.01	1280	6	0.77	80
Cytisus scoparius	RE15	0.44	n.d.	n.d.	5	0.07	110	n.d.	0.37	130
Cytisus scoparius	RE16	0.33	n.d.	n.d.	8	0.10	310	n.d.	0.47	190
Cytisus scoparius	RE20	0.40	n.d.	n.d.	16	0.03	350	n.d.	0.58	100
Cytisus scoparius	RE21	0.60	n.d.	6	9	0.01	980	n.d.	0.58	210
Cytisus scoparius	RE22	0.40	n.d.	n.d.	14	0.07	490	8	0.69	80
Cytisus scoparius	RE25	0.40	n.d.	n.d.	10	0.06	500	n.d.	0.41	80
Cytisus scoparius	RE26	0.25	n.d.	n.d.	12	0.01	170	n.d.	0.44	90
Cytisus scoparius	RE27	0.30	n.d.	n.d.	14	0.05	500	n.d.	0.47	100

Tabla 2.5 (continuación).- Concentración de metales pesados en las hojas de las plantas recolectadas en los distintos puntos de muestreo del yacimiento de Rubiais (RE= zona de escombrera o balsa de lodos / RM= zona de mina). (n.d.= No detectado: Co, Cr, Ni <5 mg kg^{-1} / Hg <0.01 mg kg^{-1}).

Especie	Punto de recogida	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mn	Ni	Pb	Zn
		mg kg^{-1}								
Cytisus scoparius	RE28	0.36	n.d.	n.d.	15	0.10	400	n.d.	0.49	120
Cytisus scoparius	RE29	0.14	n.d.	n.d.	15	0.08	550	10	0.01	41
Cytisus scoparius	RE30	0.46	n.d.	n.d.	13	0.07	1330	8	0.37	52
Cytisus scoparius	RM1	0.83	n.d.	n.d.	17	0.02	210	n.d.	2.72	120
Cytisus scoparius	RM2	0.33	n.d.	n.d.	11	0.01	700	9	0.43	47
Cytisus scoparius	RM3	0.17	n.d.	n.d.	11	0.02	300	n.d.	0.35	42
Cytisus scoparius	RM4	0.63	n.d.	n.d.	12	0.03	160	n.d.	0.70	150
Cytisus scoparius	RM5	0.44	n.d.	n.d.	10	0.02	220	6	0.91	180
Cytisus scoparius	RM6	0.15	n.d.	n.d.	7	0.01	160	n.d.	0.09	41
Cytisus scoparius	RM7	1.95	n.d.	n.d.	7	0.21	80	n.d.	18.79	470
Cytisus scoparius	RM8	0.23	n.d.	n.d.	14	0.03	140	n.d.	1.24	150
Erica arborea	RE8	0.05	n.d.	n.d.	5	0.07	930	6	0.57	42
Erica arborea	RE14	0.04	n.d.	n.d.	15	0.02	460	8	0.68	24
Erica arborea	RE26	0.03	n.d.	n.d.	10	0.05	470	7	0.52	27
Hieracium sp.	RE4	1.92	n.d.	n.d.	8	0.02	42	8	3.21	170
Hieracium sp.	RE10	1.00	n.d.	n.d.	10	0.06	230	6	1.13	460
Hieracium sp.	RE12	0.08	n.d.	n.d.	5	0.01	270	6	0.81	320
Hieracium sp.	RE20	1.86	n.d.	n.d.	17	0.08	80	n.d.	5.34	300
Hieracium sp.	RE21	1.03	n.d.	6	16	0.12	130	n.d.	2.59	500
Hieracium sp.	RE26	1.99	n.d.	n.d.	10	0.09	63	6	1.53	350
Hieracium sp.	RE30	0.17	n.d.	n.d.	8	n.d.	240	10	0.80	300
Hieracium sp.	RM1	1.06	n.d.	n.d.	17	0.03	67	n.d.	1.56	210
Hieracium sp.	RM2	0.52	n.d.	5	16	0.05	140	n.d.	1.00	140
Hieracium sp.	RM3	0.64	n.d.	n.d.	15	0.03	110	5	1.08	110
Hieracium sp.	RM4	3.24	n.d.	n.d.	14	0.06	51	n.d.	4.78	220
Hieracium sp.	RM5	2.77	n.d.	n.d.	15	0.06	40	5	0.34	490
Hieracium sp.	RM6	0.97	n.d.	n.d.	11	0.05	76	5	0.06	160
Lotus corniculatus	RE4	0.41	n.d.	n.d.	9	0.08	49	n.d.	0.74	230
Lotus corniculatus	RE5	0.36	n.d.	n.d.	10	0.07	32	8	1.62	220
Lotus corniculatus	RE6	0.85	n.d.	n.d.	8	0.09	25	n.d.	4.02	350
Lotus corniculatus	RE7	0.81	n.d.	n.d.	8	0.02	40	n.d.	2.26	240
Lotus corniculatus	RE28	0.32	n.d.	n.d.	13	0.01	42	n.d.	0.40	160
Rosa sp.	RE4	0.05	n.d.	n.d.	5	0.05	90	n.d.	0.22	35
Rosa sp.	RE5	0.02	n.d.	n.d.	8	0.01	47	8	0.24	33
Rosa sp.	RE6	0.10	n.d.	n.d.	6	0.03	39	n.d.	0.51	43
Salix atrocinerea	RE7	2.86	n.d.	n.d.	29	0.08	48	5	1.91	510
Salix atrocinerea	RE8	2.80	n.d.	n.d.	23	0.01	250	10	0.96	500
Salix atrocinerea	RE12	0.21	n.d.	n.d.	10	0.03	460	10	0.38	800
Salix atrocinerea	RE14	2.75	n.d.	5	12	0.08	2220	19	0.24	480
Salix atrocinerea	RE16	2.50	n.d.	n.d.	20	0.11	53	8	0.90	500
Salix atrocinerea	RE17	0.11	n.d.	n.d.	19	0.05	140	5	0.02	500
Salix atrocinerea	RE17	3.20	n.d.	n.d.	25	0.04	170	7	1.50	600
Salix atrocinerea	RE18	3.62	n.d.	n.d.	19	0.07	120	6	0.91	450
Salix atrocinerea	RE19	4.17	n.d.	n.d.	18	0.02	520	6	0.57	500
Salix atrocinerea	RE23	3.96	n.d.	8	21	0.08	600	9	0.37	700
Salix atrocinerea	RE24	2.58	n.d.	n.d.	19	0.04	390	10	0.41	500
Salix atrocinerea	RE25	3.40	n.d.	n.d.	7	0.07	1280	13	0.22	510
Salix atrocinerea	RE28	3.07	n.d.	n.d.	13	0.02	79	6	1.16	500
Salix atrocinerea	RE29	0.90	n.d.	n.d.	13	0.02	650	6	0.47	400
Salix atrocinerea	RM8	0.56	n.d.	n.d.	11	0.02	200	n.d.	1.11	700
Taraxacum officinale	RE21	0.64	n.d.	7	18	0.02	110	n.d.	0.73	520

ANEXO 3

ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL ENSAYO DE OPTIMIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Cistus ladanifer* (CAPÍTULO 4)

Tabla 3.1.- Caracterìsticas generales de los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (NP: sin planta, S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra	pH	pH_{KCl}	%C	P	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}
				mg kg^{-1}	cmol(+) kg^{-1}			
0N 10P NP	5.4	3.3	*	113.63	23.5	0.11	0.06	0.08
0N 15P NP	5.3	5.2	*	97.98	22.5	0.11	0.16	0.11
0N 30P NP	5.4	5.1	*	119.97	19.5	0.10	0.20	0.10
10N 0P NP	5.2	5.2	*	137.38	26.0	0.13	0.10	0.11
10N 10P NP	5.3	5.2	*	103.76	31.0	0.16	0.10	0.10
10N 15P NP	5.4	5.4	*	111.21	17.8	0.09	0.13	0.09
10N 30P NP	5.5	5.4	*	109.60	23.0	0.12	0.17	0.09
25N 0P NP	5.5	5.4	*	109.16	22.3	0.10	0.07	0.09
25N 10P NP	5.4	5.4	*	117.92	21.9	0.10	0.17	0.08
25N 15P NP	5.4	5.3	*	104.38	23.7	0.12	0.12	0.08
25N 30P NP	5.5	5.5	*	113.95	20.8	0.11	0.24	0.09
50N 0P NP	5.5	5.5	*	98.97	30.0	0.13	0.07	0.09
50N 10P NP	5.5	5.4	*	113.69	20.4	0.10	0.13	0.09
50N 15P NP	5.6	5.5	*	108.66	17.8	0.10	0.14	0.08
CONTROL								
S_1+2	*	5.8	0.51	58.74	20.0	0.79	0.08	0.03
S_3+4	5.8	5.7	0.46	144.33	26.0	0.87	0.10	0.05
S_5+6	5.8	5.6	0.41	52.31	21.0	0.77	0.08	0.03
S_7+9	*	5.9	0.48	154.89	25.0	0.94	0.09	0.03
S_8+10	5.8	5.7	0.43	131.09	16.0	0.86	0.10	0.10
0N 10P								
S_1+2	5.7	5.6	0.38	46.47	13.0	1.00	0.17	0.10
S_3+5	5.7	5.6	0.38	52.01	15.1	0.84	0.15	0.08
S_7+8	6.1	5.9	0.46	68.46	19.7	0.81	0.14	0.14
S_9	5.9	5.5	0.47	*	14.2	0.91	0.08	0.07
0N 15P								
S_1+2	5.7	5.6	0.45	93.00	17.9	0.81	0.16	0.05
S_3+4	5.9	5.8	0.45	85.30	21.5	0.81	0.19	0.08
S_5+6	5.7	5.7	0.41	126.19	17.4	0.54	0.13	0.07
S_7+8	5.6	5.6	0.45	123.41	14.3	0.69	0.16	0.07
S_9+10	5.8	5.6	0.41	128.67	13.6	0.54	0.15	0.07
0N 30P								
S_1+2	5.9	5.8	0.40	68.23	13.9	0.63	0.24	0.06
S_3+4	5.7	5.5	0.45	46.21	18.5	0.79	0.25	0.06
S_7	5.7	5.6	0.47	129.94	15.5	0.94	0.21	0.08
10N 0P								
S_1+3	5.6	5.3	0.44	56.00	15.3	0.81	0.08	0.06
S_2+4	5.9	5.5	0.53	137.99	17.4	0.74	0.12	0.08
S_5+7	5.9	5.6	0.34	52.31	15.2	0.71	0.08	0.07
S_6+8	5.9	5.6	0.45	76.29	13.6	0.64	0.08	0.07
S_9	5.8	5.5	0.38	50.77	21.0	0.84	0.10	0.02
10N 10P								
S_1+3	5.8	5.7	0.41	*	14.8	0.72	0.09	0.06
S_2+4	5.6	5.7	0.45	66.11	11.7	0.77	0.09	0.06
S_5+9	5.2	5.5	0.34	82.30	15.7	0.64	0.09	0.05
S_6	5.7	5.6	0.38	73.42	16.6	0.84	0.08	0.06
S_7+8	5.5	5.7	0.45	72.18	13.9	0.67	0.10	0.05
10N 15P								
S_1+6	5.7	5.5	*	66.70	13.0	0.59	0.12	0.07
S_2+3	5.8	5.6	0.45	64.87	14.3	0.64	0.12	0.06
S_4+5	5.7	5.6	0.45	*	23.0	0.91	0.16	0.03
S_7+10	5.6	5.8	0.45	64.25	18.1	0.74	0.16	0.04
S_8+9	5.7	5.6	*	63.01	15.6	0.84	0.12	0.05

**Datos no disponibles*

Tabla 3.1 (continuación).- Caracterìsticas generales de los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de Cistus ladanifer (NP: sin planta, S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra	pH	pH_{KCl}	%C	P	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}
				mg kg^{-1}	cmol(+) kg^{-1}			
10N 30P								
S_1+2	5.7	5.7	0.46	130.75	16.4	0.67	0.18	0.06
S_3+4	5.6	5.6	0.37	49.27	18.7	0.61	0.25	0.06
S_5+6	5.7	5.7	0.41	118.17	24.0	0.92	0.23	0.02
S_7+8	5.7	5.7	*	100.37	16.4	0.69	0.17	0.04
S_9+10	5.5	5.6	0.45	59.98	14.9	0.86	0.27	0.06
25N 0P								
S_1+4	5.9	5.8	0.42	108.53	17.1	0.64	0.07	0.05
S_2+3	5.7	5.5	0.49	*	13.7	0.69	0.08	0.06
S_5+9	5.6	5.6	0.42	109.91	15.4	0.76	0.07	0.05
S_6+7	5.8	5.5	0.34	95.28	15.2	0.84	0.06	0.05
S_8	6.2	5.9	0.46	113.36	27.0	0.81	0.07	0.02
25N 10P								
S_1+4	5.8	5.5	0.45	48.36	16.3	0.87	0.15	0.05
S_2+3	5.7	5.6	0.44	87.52	13.2	0.71	0.10	0.05
S_5+8	5.8	5.8	0.46	57.50	12.9	0.67	0.09	0.03
S_6+9	5.9	5.7	0.45	78.15	14.9	0.74	0.09	0.06
S_7	5.8	5.7	*	71.99	14.7	0.69	0.10	0.08
25N 15P								
S_1+4	5.6	5.5	0.45	104.42	15.6	0.69	0.13	0.06
S_2+3	5.7	5.8	0.45	92.48	13.2	0.77	0.12	0.06
S_5	5.9	5.8	0.42	98.58	14.3	0.67	0.10	0.06
S_6+8	5.6	5.5	0.46	*	15.2	0.76	0.13	0.05
S_7+9	5.7	5.8	*	136.63	14.7	0.61	0.14	0.06
25N 30P								
S_1+6	5.8	5.8	0.38	61.18	22.0	0.87	0.24	0.02
S_2+3	5.9	5.9	0.50	118.84	16.3	0.86	0.08	0.05
S_4+5	5.6	5.6	0.41	81.09	14.1	0.77	0.17	0.04
S_8+9	5.6	5.8	0.38	*	18.6	0.89	0.15	0.07
S_10	5.7	5.7	0.48	54.79	22.0	0.69	0.13	0.02
50N 0P								
S_1+3	5.5	5.6	0.40	*	16.7	0.77	0.07	0.07
S_2+6	5.6	5.6	0.42	59.39	13.2	0.54	0.08	0.07
S_4+5	5.6	5.6	0.47	48.03	16.8	0.58	0.05	0.05
S_7+8	5.7	5.5	0.47	32.14	18.8	0.58	0.06	0.06
S_9	5.5	5.5	0.37	51.10	14.5	0.74	0.07	0.07
50N 10P								
S_1+2	5.8	5.8	0.42	86.64	14.1	0.64	0.10	0.06
S_3+5	5.7	5.8	0.41	95.02	25.0	0.92	0.14	0.04
S_7+9	5.5	5.7	0.40	105.79	23.0	0.74	0.11	0.03
50N 15P								
S_1+2	5.5	5.7	0.41	54.36	14.6	0.71	0.11	0.04
S_3+4	5.7	5.6	0.49	56.91	16.3	0.66	0.10	0.06
S_5+7	5.7	5.6	0.45	100.90	13.2	0.69	0.09	0.03
S_6+9	5.7	5.8	0.41	65.79	14.8	0.64	0.10	0.06
50N 30P								
S_1+3	5.9	6.0	*	*	26.0	0.72	0.18	0.02
S_2+4	*	5.7	0.58	56.91	24.0	0.81	0.18	0.02
S_5+6	5.7	5.5	0.38	103.44	24.6	0.66	0.13	0.07
S_7+9	5.8	5.9	*	124.45	25.0	0.99	0.17	0.02
S_8	5.7	5.7	0.43	59.68	14.8	0.67	0.14	0.05

**Datos no disponibles*

Tabla 3.1 (continuación).- Caracterìsticas generales de los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de Cistus ladanifer (NP: sin planta, S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra	pH	pH_{KCl}	%C	P	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}
				mg kg^{-1}	cmol(+) kg^{-1}			
CONTROL								
SC_1+4	5.6	5.5	0.45	161.90	14.3	0.81	0.10	0.07
SC_2+3	5.8	5.7	0.47	214.85	16.2	0.87	0.09	0.07
SC_5+8	5.7	5.6	0.39	199.68	11.7	0.74	0.06	0.04
SC_6	5.9	5.8	0.44	93.33	13.3	0.95	0.07	0.08
SC_7+9	5.7	5.6	0.42	143.77	13.9	0.77	0.09	0.08
0N 10P								
SC_1+4	5.6	5.5	0.42	74.99	14.3	0.87	0.09	0.07
SC_2+5	5.6	5.5	*	83.50	16.2	0.84	0.09	0.04
SC_3+7	5.5	5.4	0.41	102.20	21.0	0.84	0.12	0.06
SC_6+9	5.7	5.5	0.42	104.62	13.1	0.89	0.12	0.06
SC_8	5.5	5.4	0.41	110.46	24.1	0.87	0.09	0.07
0N 15P								
SC_1+2	5.9	5.7	0.57	124.59	13.2	0.76	0.12	0.07
SC_3+7	5.8	*	*	112.25	17.7	*	0.16	0.11
SC_4+6	6.0	5.7	0.47	91.50	14.5	0.89	0.14	0.07
SC_5	5.8	5.7	0.43	85.36	16.3	0.82	0.11	0.08
SC_8+9	5.7	5.7	0.45	82.23	14.1	0.82	0.13	0.05
0N 30P								
SC_1+3	5.7	5.7	0.57	60.89	13.3	0.87	0.16	0.06
SC_2+4	*	5.7	0.45	*	14.9	0.86	0.16	0.06
SC_5+7	5.7	5.5	0.50	102.20	17.6	0.95	0.19	0.06
SC_6+8	5.7	5.6	0.49	148.60	24.5	0.86	0.20	0.05
SC_9	5.7	5.5	*	*	13.9	0.84	0.17	0.07
10N 0P								
SC_1+3	5.6	5.4	*	86.57	13.8	0.77	0.05	0.05
SC_2+4	5.6	5.5	0.42	92.38	11.0	0.81	0.05	0.05
SC_5+8	5.8	5.7	0.42	91.17	12.4	0.69	0.07	0.05
SC_6+7	5.7	5.7	0.39	101.26	12.7	0.84	0.05	0.04
SC_9	5.7	5.5	0.38	*	15.5	0.76	0.06	0.07
10N 10P								
SC_1+2	5.3	5.6	*	97.27	24.0	1.00	0.16	0.03
SC_3+5	5.7	5.7	0.34	90.88	12.5	0.69	0.09	0.06
SC_4+9	5.6	5.7	0.46	*	13.7	0.72	0.10	0.05
SC_6+8	5.6	5.5	0.44	102.20	12.4	0.81	0.13	0.08
SC_7	5.7	5.6	0.43	75.02	*	*	*	*
10N 15P								
SC_1+3	5.6	5.6	*	105.60	13.5	0.77	0.11	0.08
SC_2+4	5.5	5.6	0.48	141.00	16.3	0.87	0.13	0.06
SC_5+6	5.5	5.7	0.43	*	14.3	0.81	0.11	0.07
SC_7+9	5.4	5.7	0.46	96.95	17.3	0.84	0.10	0.05
SC_8	5.6	5.7	0.39	51.10	14.7	0.72	0.10	0.06
10N 30P								
SC_1+2	5.6	5.7	0.38	67.38	12.9	0.66	0.17	0.05
SC_3+6	5.5	5.7	0.49	96.59	12.8	0.54	0.12	0.02
SC_4+5	5.3	5.6	0.39	79.56	18.3	0.76	0.17	0.05
SC_7+8	5.7	5.7	0.57	109.51	15.6	0.81	0.17	0.05
SC_9	5.6	5.7	0.40	75.90	21.0	0.82	0.16	0.02
25N 0P								
SC_1+2	5.6	5.6	0.51	86.28	16.1	0.82	0.06	0.05
SC_3+5	6.0	5.9	0.47	106.12	13.6	0.71	0.06	0.07
SC_4+8	5.7	5.6	0.45	91.50	11.7	0.79	0.12	0.06
SC_6+7	6.0	5.8	0.43	90.59	29.0	0.74	0.09	0.02
SC_9+10	5.7	5.6	0.51	94.86	20.0	0.99	0.06	0.06

**Datos no disponibles*

Tabla 3.1 (continuación).- Caracterìsticas generales de los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de Cistus ladanifer (NP: sin planta, S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra	pH	pH_{KCl}	%C	P	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}
				mg kg^{-1}	cmol(+) kg^{-1}			
25N 10P								
SC_1+3	5.7	5.7	0.49	64.25	13.7	0.64	0.11	0.05
SC_2+5	5.6	5.5	0.42	136.73	12.4	0.79	0.10	0.05
SC_4+8	5.7	5.6	*	128.17	18.0	0.76	0.14	0.03
SC_6+7	5.5	5.8	0.44	56.91	15.6	0.71	0.12	0.06
SC_9	5.7	5.8	0.45	88.63	13.4	0.76	0.13	0.06
25N 15P								
SC_1+2	*	5.6	0.53	114.44	13.2	0.76	0.10	0.05
SC_3+6	5.7	5.6	0.46	96.36	11.2	0.67	0.10	0.05
SC_4+5	5.7	5.7	0.42	105.47	14.8	0.89	0.14	0.07
SC_7+8	5.8	5.8	0.51	112.70	12.8	0.67	0.11	0.07
SC_9	5.7	5.5	0.41	84.12	13.8	0.74	0.12	0.05
25N 30P								
SC_1+5	5.6	5.7	0.53	91.24	24.0	0.76	0.24	0.02
SC_2+3	5.8	5.9	0.45	85.36	25.0	0.89	0.21	0.02
SC_4	5.6	5.7	0.45	121.21	22.0	0.77	0.15	0.02
SC_6+8	5.8	5.8	0.46	74.11	14.3	0.86	0.20	0.05
SC_7+9	5.8	5.8	*	135.44	14.9	0.63	0.14	0.05
50N 0P								
SC_1+4	5.6	5.5	0.43	124.98	11.4	0.69	0.04	0.05
SC_2+9	5.7	5.5	*	105.99	13.7	0.63	0.05	0.05
SC_3+6	5.7	5.6	0.48	120.05	13.8	0.71	0.09	0.05
SC_5+7	5.4	5.6	0.64	71.89	14.6	0.76	0.05	0.04
50N 10P								
SC_1+4	5.7	5.7	0.43	82.88	12.6	0.72	0.09	0.06
SC_2+3	5.8	5.9	*	87.49	25.0	0.86	0.11	0.03
SC_5	5.6	5.6	*	*	15.0	0.79	0.11	0.05
SC_6+9	5.7	5.6	0.45	94.06	12.9	0.76	0.08	0.04
SC_7+8	5.7	5.7	0.44	64.90	17.6	0.74	0.08	0.05
SC_10	5.9	5.7	0.53	89.35	24.0	0.81	0.09	0.03
50N 15P								
SC_1+3	5.7	5.8	0.43	132.16	16.6	0.63	0.08	0.06
SC_2+4	5.7	5.3	0.45	109.32	16.8	0.67	0.10	0.06
SC_5+7	5.8	5.6	0.52	66.11	14.3	0.74	0.10	0.05
SC_6+10	5.7	5.7	0.66	98.35	14.6	0.69	0.11	0.05
SC_8	5.9	5.7	*	*	13.5	0.72	0.06	0.05
50N 30P								
SC_1+2	5.6	5.5	0.60	48.98	*	*	*	*
SC_3+4	5.7	5.5	0.46	71.30	14.5	0.77	0.17	0.04
SC_5+6	5.7	*	0.42	109.22	14.0	0.79	0.23	0.05
SC_7+9	5.8	5.6	0.51	76.19	14.3	0.79	0.13	0.05
SC_8	5.9	*	0.67	114.63	16.4	0.79	0.13	0.06

**Datos no disponibles*

Tabla 3.2.- Concentración de metales pesados en los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd <5 y Pb <50 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestra		Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
				mg kg^{-1}			
CONTROL							
	S_1+2	61	79	43	570	70	73
	S_3+4	21	82	24	600	48	75
	S_5+6	25	91	23	600	49	77
	S_7+9	25	85	24	610	46	76
	S_8+10	19	81	22	590	44	72
0N 10P							
	S_1+2	22	76	30	550	44	76
	S_3+5	21	70	21	530	47	68
	S_4+6	29	117	27	580	51	72
	S_7+8	21	69	20	520	40	77
	S_9	23	92	22	570	46	75
0N 15P							
	S_1+2	19	69	19	530	42	77
	S_3+4	27	122	25	560	48	67
	S_5+6	24	74	28	560	45	79
	S_7+8	26	132	26	570	51	73
	S_9+10	22	76	23	560	45	82
0N 30P							
	S_1+2	24	130	28	600	52	72
	S_3+4	25	87	27	560	45	80
	S_7	23	81	23	550	42	75
10N 0P							
	S_1+3	21	83	24	560	42	73
	S_2+4	21	83	21	590	41	73
	S_5+7	22	84	30	570	50	74
	S_6+8	25	82	28	580	45	74
	S_9	21	83	24	580	44	76
10N 10P							
	S_1+3	26	81	27	530	45	71
	S_2+4	23	87	21	550	41	72
	S_5+9	22	75	19	560	40	74
	S_6	25	81	28	570	45	78
	S_7+8	25	81	26	570	42	86
10N 15P							
	S_1+6	25	101	29	580	47	75
	S_2+3	18	53	13	320	29	79
	S_4+5	27	111	23	610	50	77
	S_7+10	24	79	32	600	47	83
	S_8+9	26	96	27	570	47	84
10N 30P							
	S_1+2	28	96	27	600	50	81
	S_3+4	23	92	22	590	43	85
	S_5+6	23	79	26	560	43	83
	S_7+8	27	78	38	560	54	97
	S_9+10	36	90	26	600	48	71
25N 0P							
	S_1+4	27	143	30	640	55	84
	S_2+3	25	138	26	600	50	83
	S_5+9	26	136	30	590	52	85
	S_6+7	24	137	26	620	50	81
	S_8	26	134	30	620	52	79

Tabla 3.2 (continuación).- Concentración de metales pesados en los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd <5 y Pb <50 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestra		Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
				mg kg^{-1}			
25N 10P							
	S_1+4	51	88	37	570	67	98
	S_2+3	25	88	30	590	50	79
	S_5+8	20	82	24	570	41	79
	S_6+9	21	102	21	590	46	75
	S_7	25	96	26	580	44	77
25N 15P							
	S_1+4	24	89	26	590	46	78
	S_2+3	22	107	28	580	49	81
	S_5	20	69	23	530	45	67
	S_6+8	22	86	23	580	43	74
	S_7+9	23	77	21	580	46	72
25N 30P							
	S_1+6	20	69	23	560	44	72
	S_2+3	24	89	24	610	42	74
	S_4+5	26	111	24	590	49	81
	S_8+9	25	86	25	600	47	73
	S_10	24	82	25	600	49	75
50N 0P							
	S_1+3	21	77	28	580	43	76
	S_2+6	20	63	22	500	42	72
	S_4+5	26	121	24	580	48	83
	S_7+8	20	85	25	580	43	79
	S_9	26	123	34	600	55	85
50N 10P							
	S_1+2	23	86	25	600	46	76
	S_3+5	25	76	24	610	45	74
	S_7+9	24	95	23	590	44	79
50N 15P							
	S_1+2	25	68	27	550	47	72
	S_3+4	21	70	21	590	42	72
	S_5+7	23	66	27	460	46	71
	S_6+9	28	70	26	510	48	69
50N 30P							
	S_1+3	20	65	22	490	44	72
	S_2+4	22	67	29	490	46	71
	S_5+6	18	68	28	530	48	73
	S_7+9	28	68	27	490	47	69
	S_8	19	67	24	480	44	67
CONTROL							
	SC_1+4	22	73	28	590	44	70
	SC_2+3	20	68	23	510	44	69
	SC_5+8	22	72	25	570	46	70
	SC_6	25	92	26	610	47	75
	SC_7+9	23	83	25	580	45	74
0N 10P							
	SC_1+4	22	65	25	560	43	75
	SC_2+5	18	66	21	580	41	68
	SC_3+7	23	67	27	570	53	71
	SC_6+9	24	68	23	580	45	69
	SC_8	24	67	27	600	47	70
0N 15P							
	SC_1+2	19	66	24	560	44	69
	SC_3+7	22	65	25	540	47	69
	SC_4+6	21	66	28	540	48	68
	SC_5	23	67	29	580	46	70
	SC_8+9	19	66	22	570	42	70

Tabla 3.2 (continuación).- Concentración de metales pesados en los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd <5 y Pb <50 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestra		Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
				mg kg^{-1}			
0N 30P							
	SC_1+3	22	76	25	570	42	71
	SC_2+4	23	71	23	590	42	69
	SC_5+7	33	80	39	550	44	72
	SC_6+8	20	77	28	580	39	71
	SC_9	45	78	28	550	53	72
10N 0P							
	SC_1+3	25	97	24	580	49	75
	SC_2+4	26	78	31	580	48	70
	SC_5+8	23	83	25	600	45	73
	SC_6+7	30	109	25	600	52	75
	SC_9	38	96	34	590	51	72
10N 10P							
	SC_1+2	21	86	26	580	40	73
	SC_3+5	27	88	37	580	46	76
	SC_4+9	22	83	27	580	44	70
	SC_6+8	19	81	25	570	39	70
	SC_7	25	76	26	550	40	73
10N 15P							
	SC_1+3	20	75	24	580	36	71
	SC_2+4	27	91	29	580	42	73
	SC_5+6	24	91	28	570	44	77
	SC_7+9	22	83	24	580	40	73
	SC_8	22	90	25	570	39	74
10N 30P							
	SC_1+2	18	109	20	600	40	78
	SC_3+6	21	76	22	570	37	73
	SC_4+5	*	90	22	*	44	71
	SC_7+8	21	77	22	560	37	69
	SC_9	19	80	24	580	40	68
25N 0P							
	SC_1+2	23	84	24	590	44	70
	SC_3+5	21	77	26	590	43	72
	SC_4+8	21	88	25	590	45	75
	SC_6+7	27	130	26	620	50	78
	SC_9+10	22	81	25	590	47	72
25N 10P							
	SC_1+3	18	84	20	580	36	72
	SC_2+5	19	78	25	570	38	75
	SC_4+8	21	78	26	550	43	69
	SC_6+7	21	86	24	570	40	71
	SC_9	23	103	32	550	44	82
25N 15P							
	SC_1+2	21	76	23	550	37	70
	SC_3+6	25	88	23	580	40	74
	SC_4+5	21	83	22	570	39	72
	SC_7+8	24	90	29	560	42	73
	SC_9	25	99	25	580	41	74
25N 30P							
	SC_1+5	22	83	21	570	37	71
	SC_2+3	26	90	37	600	50	71
	SC_4	26	104	22	580	42	73
	SC_6+8	27	89	27	590	42	70
	SC_7+9	25	90	28	590	42	74
50N 0P							
	SC_1+4	21	74	25	560	50	73
	SC_2+9	21	74	22	590	46	75
	SC_3+6	19	65	20	570	43	74
	SC_5+7	18	63	20	540	40	68

**Datos no disponibles*

Tabla 3.2 (continuación).- Concentración de metales pesados en los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd <5 y Pb <50 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestra		Co	Cr	Cu	Mn	Ni	Zn
				mg kg^{-1}			
50N 10P							
	SC_1+4	26	80	30	560	43	73
	SC_2+3	21	83	23	610	42	71
	SC_5	22	85	25	560	40	73
	SC_6+9	25	90	28	570	44	73
	SC_7+8	23	86	25	550	41	72
	SC_10	26	103	27	630	45	81
50N 15P							
	SC_1+3	29	86	38	550	54	70
	SC_2+4	20	81	27	550	38	71
	SC_5+7	20	88	23	570	39	80
	SC_6+10	25	107	27	560	46	82
	SC_8	22	88	23	530	40	70
50N 30P							
	SC_1+2	20	86	22	550	37	71
	SC_3+4	24	90	23	550	42	70
	SC_5+6	25	116	28	580	47	80
	SC_7+9	23	96	24	560	39	73
	SC_8	28	83	25	570	43	74

Tabla 3.3.- Concentración de la fracción biodisponible de metales pesados en los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd <0.5 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestras		Co_{EDTA}	Cr_{EDTA}	Cu_{EDTA}	Mn_{EDTA}	Ni_{EDTA}	Pb_{EDTA}	Zn_{EDTA}
					mg kg^{-1}			
CONTROL								
	S_1+2	1.68	0.78	4.38	94.3	1.32	7.32	2.40
	S_3+4	2.04	0.84	3.36	102.5	1.32	7.74	2.70
	S_5+6	2.40	0.84	3.54	108.7	1.44	7.74	2.22
	S_7+9	2.76	0.96	3.48	114.8	1.62	8.22	2.46
0N 10P								
	S_1+2	*	0.90	*	*	*	*	*
	S_3+5	2.22	1.20	4.50	131.2	1.38	7.38	2.40
	S_4+6	2.04	1.20	4.20	100.5	1.38	7.98	2.94
	S_9	1.56	0.90	3.24	96.4	1.32	6.12	2.58
0N 15P								
	S_1+2	1.62	0.90	3.42	92.3	1.38	6.12	2.34
	S_3+4	1.56	0.90	3.66	92.3	1.38	7.74	2.64
	S_5+6	1.62	0.90	3.84	108.7	1.38	7.74	2.28
	S_7+8	1.44	0.90	4.02	106.6	1.44	8.34	2.58
	S_9+10	1.26	0.84	3.66	94.3	1.38	7.02	2.88
0N 30P								
	S_1+2	1.44	0.96	4.26	104.6	1.50	7.38	2.28
	S_3+4	1.38	0.96	4.98	108.7	1.50	13.68	2.28
	S_7	1.20	0.90	5.16	96.4	1.50	6.90	2.40
10N 0P								
	S_1+3	1.92	1.02	4.80	106.6	1.80	8.58	2.70
	S_2+4	2.04	0.96	4.56	112.8	1.62	7.86	2.40
	S_5+7	1.98	1.02	4.56	104.6	1.74	7.62	2.28
	S_6+8	*	1.02	3.90	127.1	1.86	7.92	2.34
	S_9	1.80	1.08	3.42	90.2	1.68	6.96	2.94
10N 10P								
	S_1+3	1.26	0.96	4.44	94.3	1.44	7.68	2.16
	S_2+4	1.68	0.84	*	*	1.50	8.46	2.34
	S_5+9	1.50	0.96	5.40	110.7	1.74	7.44	2.40
	S_6	1.74	1.08	4.56	92.3	1.74	7.50	2.10
	S_7+8	2.46	0.96	4.26	112.8	1.74	8.76	1.92
10N 15P								
	S_1+6	1.74	0.96	4.62	116.9	1.80	9.90	2.04
	S_2+3	2.04	0.84	4.50	102.5	1.56	10.98	2.16
	S_4+5	1.74	0.78	4.74	110.7	2.16	9.54	3.18
	S_7+10	1.98	0.84	3.72	112.8	1.38	9.48	2.46
	S_8+9	2.22	0.90	4.20	114.8	1.44	8.76	2.40
10N 30P								
	S_1+2	1.56	0.84	4.56	98.4	1.26	9.90	2.64
	S_3+4	1.92	0.72	2.88	*	1.62	7.74	2.46
	S_5+6	1.68	0.90	3.78	108.7	1.38	9.30	2.46
	S_7+8	2.04	0.78	4.74	104.6	1.32	8.40	3.06
	S_9+10	2.22	0.78	3.24	129.2	1.38	7.68	2.64
25N 0P								
	S_2+3	2.04	0.90	2.88	80.0	1.56	5.88	1.80
	S_5+9	2.94	0.90	3.00	108.7	1.80	5.52	11.76
	S_6+7	2.76	0.84	2.82	106.6	1.92	6.30	1.80
	S_8	3.30	0.90	2.88	121.0	2.46	6.72	2.04

**Datos no disponibles*

Tabla 3.3 (continuación).- Concentración de la fracción biodisponible de metales pesados en los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd <0.5 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestras		Co_{EDTA}	Cr_{EDTA}	Cu_{EDTA}	Mn_{EDTA}	Ni_{EDTA}	Pb_{EDTA}	Zn_{EDTA}
					mg kg^{-1}			
25N 10P								
	S_1+4	1.80	0.72	4.86	102.5	1.32	7.92	2.64
	S_2+3	1.92	0.66	4.56	77.9	1.26	7.98	2.40
	S_5+8	1.62	0.60	3.78	96.4	1.08	7.68	2.04
	S_6+9	1.68	0.60	4.20	94.3	1.32	10.02	1.92
	S_7	*	0.72	3.72	114.8	1.56	9.06	2.22
25N 15P								
	S_1+4	1.80	0.72	4.74	102.5	1.32	8.64	2.10
	S_2+3	1.74	*	3.96	90.2	1.44	9.12	2.40
	S_5	3.24	0.84	4.74	555.6	1.56	9.78	2.64
	S_6+8	2.16	0.84	3.60	492.0	1.44	9.18	2.58
	S_7+9	2.28	0.78	3.48	408.0	1.38	9.18	2.64
25N 30P								
	S_1+6	2.16	0.78	3.72	502.3	1.50	9.72	2.58
	S_2+3	2.10	0.66	3.00	459.2	1.32	7.80	2.40
	S_4+5	2.04	0.72	3.24	408.0	1.44	8.94	2.28
	S_8+9	2.28	0.66	3.42	432.6	1.56	8.34	3.12
	S_10	*	0.66	4.20	590.4	1.56	8.04	2.58
50N 0P								
	S_1+3	1.62	0.78	3.06	63.6	1.74	7.02	1.74
	S_2+6	1.62	0.84	3.12	65.6	1.74	7.38	*
	S_4+5	1.44	0.96	4.32	82.0	1.80	7.74	2.16
	S_7+8	1.86	1.02	4.68	90.2	1.86	*	2.22
	S_9	1.56	1.02	4.44	90.2	1.74	7.38	2.10
50N 10P								
	S_1+2	1.80	0.72	3.42	449.0	1.50	7.74	2.40
	S_3+5	2.64	0.72	4.26	414.1	8.46	2.70	*
	S_7+9	3.06	0.78	3.90	414.1	1.74	7.86	2.58
50N 15P								
	S_1+2	2.34	0.78	4.68	457.2	1.62	8.16	2.76
	S_3+4	1.74	0.72	3.84	385.4	1.50	7.50	2.22
	S_5+7	2.46	0.72	3.90	410.0	1.74	7.44	2.22
	S_6+9	1.98	0.78	4.08	369.0	1.62	7.44	2.22
50N 30P								
	S_1+3	*	0.66	3.24	106.6	1.68	8.16	3.30
	S_2+4	1.86	0.60	4.02	94.3	1.26	8.28	3.12
	S_5+6	1.62	0.60	3.36	98.4	1.14	6.90	2.34
	S_7+9	1.38	0.54	3.30	80.0	1.32	7.50	1.98
	S_8	1.74	0.48	3.60	86.1	1.20	6.78	1.74
CONTROL								
	SC_1+4	1.20	0.60	4.02	92.3	1.14	7.38	2.22
	SC_2+3	1.80	0.66	3.42	94.3	0.96	7.32	2.28
	SC_5+8	1.56	0.66	3.30	471.5	1.50	5.76	2.04
	SC_6	2.52	0.60	3.12	401.8	1.62	5.40	1.86
	SC_7+9	1.62	0.66	3.96	416.2	1.68	6.84	2.10
0N 10P								
	SC_1+4	*	0.84	2.76	82.0	1.38	7.20	1.86
	SC_2+5	1.68	0.96	3.30	90.2	1.44	6.54	1.56
	SC_3+7	1.74	0.96	3.36	77.9	1.38	7.74	2.04
	SC_6+9	1.74	1.02	3.60	92.3	1.44	8.10	1.68
	SC_8	*	0.96	3.54	96.4	1.38	8.10	1.20

**Datos no disponibles*

Tabla 3.3 (continuación).- Concentración de la fracción biodisponible de metales pesados en los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd <0.5 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestras		Co_{EDTA}	Cr_{EDTA}	Cu_{EDTA}	Mn_{EDTA}	Ni_{EDTA}	Pb_{EDTA}	Zn_{EDTA}
					mg kg^{-1}			
0N 15P								
	SC_1+2	1.62	1.02	3.84	80.0	1.32	7.98	*
	SC_3+7	1.20	0.84	3.12	*	1.44	*	2.82
	SC_4+6	1.74	1.08	3.72	86.1	1.26	8.52	2.70
	SC_5	1.50	0.96	3.54	88.2	1.20	7.50	*
	SC_8+9	1.68	0.96	3.48	98.4	1.14	7.20	2.58
0N 30P								
	SC_1+3	1.50	1.02	3.42	90.2	1.08	7.44	2.22
	SC_2+4	2.04	1.14	5.16	94.3	1.14	8.58	2.70
	SC_5+7	1.80	0.90	3.84	112.8	1.20	7.32	2.16
	SC_6+8	1.98	1.02	3.84	*	1.68	8.64	2.10
	SC_9	1.56	0.84	4.98	92.3	1.14	7.26	2.46
10N 0P								
	SC_1+3	1.56	0.66	3.66	100.5	0.90	7.62	1.86
	SC_2+4	1.56	0.66	3.90	90.2	1.38	7.26	1.98
	SC_5+8	1.38	0.60	3.18	313.7	1.62	4.86	1.98
	SC_6+7	1.68	0.60	4.08	90.2	1.44	8.34	*
	SC_9	1.26	0.54	3.30	422.3	1.68	4.26	1.80
10N 10P								
	SC_1+2	2.28	0.84	4.74	96.4	1.20	7.62	2.16
	SC_3+5	1.50	0.90	4.68	94.3	1.68	6.66	2.16
	SC_4+9	1.80	0.84	4.32	96.4	1.68	6.60	2.10
	SC_6+8	2.16	0.78	5.46	102.5	1.50	7.86	2.22
	SC_7	2.46	0.72	4.02	98.4	1.50	7.50	*
10N 15P								
	SC_1+3	1.92	0.78	5.40	108.7	1.44	8.40	2.46
	SC_2+4	2.22	0.90	4.56	114.8	1.50	9.00	2.52
	SC_5+6	1.86	0.72	3.90	110.7	1.44	7.44	2.40
	SC_7+9	2.04	0.72	3.96	112.8	1.50	7.08	2.34
	SC_8	1.62	0.66	4.32	106.6	1.44	8.16	2.34
10N 30P								
	SC_3+6	1.74	0.72	3.66	94.3	1.38	7.26	1.92
	SC_4+5	2.94	0.78	3.48	118.9	1.56	8.16	1.86
	SC_7+8	2.16	0.66	2.64	100.5	1.50	7.02	1.68
	SC_9	2.22	0.66	4.26	139.4	1.44	7.14	2.52
25N 0P								
	SC_1+2	1.50	0.60	4.08	88.2	1.32	8.82	2.40
	SC_3+5	2.52	0.54	4.02	106.6	1.68	9.84	3.00
	SC_6+7	2.16	0.54	4.08	129.2	1.50	8.82	2.10
	SC_9+10	2.52	0.48	3.60	96.4	1.32	8.52	2.22
25N 10P								
	SC_1+3	2.10	0.60	3.90	98.4	1.56	7.50	3.72
	SC_2+5	1.98	0.54	4.80	102.5	1.50	7.62	2.88
	SC_4+8	1.98	0.54	5.34	104.6	1.32	7.50	2.94
	SC_6+7	1.98	0.54	4.32	108.7	1.44	6.48	2.58
	SC_9	1.80	0.66	4.38	94.3	1.26	6.18	2.64
25N 15P								
	SC_1+2	1.68	0.66	5.40	98.4	1.20	6.18	2.28
	SC_3+6	2.34	0.66	5.04	102.5	1.38	8.34	2.16
	SC_4+5	1.74	0.66	4.26	84.1	1.32	7.62	1.98
	SC_7+8	1.80	0.60	4.08	94.3	1.14	10.38	1.80
	SC_9	2.28	0.54	3.78	110.7	1.38	5.94	1.80

**Datos no disponibles*

Tabla 3.3 (continuación).- Concentración de la fracción biodisponible de metales pesados en los sustratos tras el tratamiento de fertilización y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd <0.5 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestras		Co_{EDTA}	Cr_{EDTA}	Cu_{EDTA}	Mn_{EDTA}	Ni_{EDTA}	Pb_{EDTA}	Zn_{EDTA}
					mg kg^{-1}			
25N 30P								
	SC_1+5	1.92	0.60	4.56	98.4	1.44	7.20	2.34
	SC_2+3	1.80	0.54	4.92	98.4	1.26	7.02	2.46
	SC_4	1.50	0.54	4.14	92.3	1.38	6.60	2.16
	SC_6+8	1.86	0.78	3.12	328.0	1.50	7.44	1.80
	SC_7+9	1.74	0.78	3.12	350.6	1.44	7.86	1.80
50N 0P								
	SC_1+4	2.88	0.66	3.06	69.7	1.20	8.28	2.28
	SC_2+9	1.38	0.78	3.36	67.7	1.32	7.74	3.24
	SC_3+6	1.38	0.78	2.88	71.8	1.20	8.16	5.28
	SC_5+7	1.26	0.78	2.64	69.7	1.20	8.82	1.74
50N 10P								
	SC_1+4	2.22	0.90	3.30	375.2	1.68	8.10	1.56
	SC_2+3	2.76	1.02	3.30	453.1	1.44	8.82	1.98
	SC_5	1.38	0.84	3.00	293.2	1.20	7.62	1.26
	SC_6+9	2.76	1.14	3.90	446.9	1.74	9.36	1.44
	SC_7+8	2.10	1.26	4.14	422.3	1.62	10.2	1.98
	SC_10	3.18	1.14	3.54	383.4	1.74	8.22	2.22
50N 15P								
	SC_1+3	2.58	1.32	3.84	514.6	1.62	8.76	2.16
	SC_5+7	2.40	1.38	3.78	315.7	1.62	8.40	2.10
	SC_6+10	2.52	1.50	4.26	381.3	1.32	8.46	2.70
	SC_8	2.70	1.26	3.48	418.2	1.26	7.20	2.22
50N 30P								
	SC_1+2	1.98	1.02	3.18	403.9	1.08	6.36	1.80
	SC_3+4	2.40	1.14	3.60	350.6	1.26	7.38	2.04
	SC_5+6	2.22	1.20	3.42	350.6	1.14	6.78	2.22
	SC_7+9	2.04	0.96	3.36	317.8	1.14	6.30	2.16
	SC_8	3.18	1.44	3.66	444.9	1.56	8.10	2.64

Tabla 3.4.- Datos de biomasa de <u>Cistus ladanifer</u> (nº de hojas (NH), de hojas secas (NH_S) y de hojas cloríticas (NH_C), longitud de la raíz (LR) y del tallo (LT) y peso seco de hojas (PSH) y de tallos (PST)) creciendo sobre los sustratos preparados con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra		NH	NH_S	NH_C	LR	LT	PST	PSH
					cm		g	
CONTROL								
	S1	12	4	2	9.5	1.5	0.0031	0.0393
	S2	14	8	2	14.5	1.5	0.0052	0.0558
	S3	14	4	2	18.0	2.0	*	0.0364
	S4	10	2	0	19.0	2.0	*	0.0548
	S5	10	6	0	10.0	0.5	*	0.0387
	S6	12	6	0	16.0	1.5	0.0037	0.0516
	S7	12	6	0	16.0	2.5	*	0.0514
	S8	12	4	0	14.0	2.0	0.0052	0.0496
	S9	12	4	0	21.0	2.6	*	0.0506
	S10	14	7	*	14.0	2.5	0.0052	0.0416
0N 10P								
	S1	12	4	2	16.0	4.0	0.0091	0.0607
	S2	14	4	0	22.0	3.1	0.0120	0.0873
	S3	12	4	0	16.0	2.2	0.0066	0.0484
	S4	14	6	2	21.0	4.2	0.0088	0.0606
	S5	18	6	2	15.0	2.5	0.0134	0.1167
	S6	16	6	0	29.0	4.5	0.0190	0.1896
	S7	13	4	0	16.0	3.8	0.0200	0.1508
	S8	18	7	1	32.0	4.0	0.0214	0.1773
	S9	12	4	2	18.0	2.8	0.0136	0.1489
0N 15P								
	S1	12	4	2	15.0	3.0	0.0133	0.1188
	S2	14	6	2	26.0	3.0	0.0116	0.0848
	S3	14	8	0	21.0	3.5	0.0149	0.0982
	S4	17	5	2	15.0	2.5	0.0082	0.1150
	S5	14	6	2	22.0	3.5	0.0072	0.0615
	S6	14	5	3	16.0	3.0	0.0059	0.0616
	S7	15	6	2	15.0	2.5	0.0156	0.1392
	S8	16	8	0	18.0	2.0	0.0060	0.0702
	S9	15	6	0	11.0	3.0	0.0165	0.1345
	S10	12	4	0	11.0	3.0	0.0060	0.0377
0N 30P								
	S1	14	4	0	15.5	3.6	0.0095	0.0645
	S2	14	6	0	15.0	3.8	0.0137	0.1280
	S3	16	8	1	*	4.0	0.0165	0.0922
	S4	18	10	0	14.0	4.5	0.0217	0.1699
	S5	14	6	0	21.0	3.5	0.0150	0.1092
	S6	13	6	0	12.0	2.5	0.0070	0.0994
	S7	14	8	0	8.0	3.0	0.0126	0.0874
	S8	12	2	0	10.0	1.5	0.0024	0.0190
	S9	12	6	4	14.0	1.5	0.0054	0.0698
10N 0P								
	S1	20	8	0	16.0	8.5	*	0.3106
	S2	24	16	0	20.0	7.5	0.0714	0.4431
	S3	24	8	2	16.5	6.0	*	0.3842
	S4	16	6	2	20.0	5.0	0.0300	0.2671
	S5	17	5	2	16.0	7.5	*	0.3132
	S6	47	13	4	13.0	5.0	0.0380	0.3583
	S7	28	6	2	13.0	4.5	*	0.2569
	S8	27	8	4	21.0	4.0	0.0256	0.2412
	S9	18	6	2	15.0	5.0	0.0434	0.2233
	S10	12	4	*	9.0	3.0	*	*

**Datos no disponibles*

Tabla 3.4 (continuación).- Datos de biomasa de <u>Cistus ladanifer</u> (nº de hojas (NH), de hojas secas (NH_S) y de hojas cloríticas (NH_C), longitud de la raíz (LR) y del tallo (LT) y peso seco de hojas (PSH) y de tallos (PST)) creciendo sobre los sustratos preparados con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra		NH	NH_S	NH_C	LR	LT	PST	PSH
					cm		g	
10N 10P								
	S1	28	8	4	21.0	5.5	0.0434	0.3853
	S2	16	6	2	20.0	5.0	0.0350	0.2561
	S3	20	8	2	25.0	8.0	0.0623	0.3233
	S4	18	6	2	20.0	5.0	0.0336	0.2041
	S5	18	6	2	21.0	6.0	0.0307	0.2307
	S6	26	6	*	21.0	7.5	0.0573	0.4593
	S7	34	8	3	12.0	6.0	0.0605	0.3389
	S8	22	8	2	13.0	5.5	0.0384	0.1824
	S9	35	15	2	26.0	5.0	0.0346	0.2928
10N 15P								
	S1	23	6	2	25.5	4.5	0.0323	0.3075
	S2	23	7	2	12.0	5.0	0.0307	0.2944
	S3	24	7	4	13.5	2.5	0.0202	0.3309
	S4	20	11	3	20.0	3.0	0.0423	0.3550
	S5	20	8	2	11.0	5.5	0.0423	0.2938
	S6	21	*	0	17.0	6.0	0.0490	0.3619
	S7	20	4	0	15.0	2.5	0.0508	0.4229
	S8	28	10	2	16.0	4.8	0.0374	0.0436
	S9	44	12	2	*	5.6	0.0339	0.4166
	S10	20	7	0	17.0	3.0	0.0202	0.2427
10N 30P								
	S1	14	4	0	10.0	3.0	0.0333	0.3833
	S2	26	10	0	15.0	5.5	0.0389	0.1992
	S3	17	5	0	16.0	3.0	0.0208	0.1992
	S4	14	4	0	22.0	4.7	0.0307	0.2598
	S5	15	7	0	16.0	5.0	0.0146	0.2769
	S6	27	6	2	1.7	6.5	0.0374	0.2359
	S7	37	11	2	11.0	2.5	0.0202	0.3624
	S8	27	10	0	12.0	5.0	0.0278	0.2075
	S9	42	13	2	16.0	6.0	0.0419	0.3435
	S10	21	8	0	11.0	5.5	0.0332	0.2242
25N 0P								
	S1	16	3	5	12.0	4.0	0.0208	0.1141
	S2	51	8	2	19.0	8.0	0.0869	0.5931
	S3	49	8	4	23.0	8.0	0.0605	0.6038
	S4	43	21	1	20.5	7.5	0.0803	0.5449
	S5	44	8	2	18.0	5.0	0.0190	0.4703
	S6	41	4	4	20.0	6.0	0.0324	0.2302
	S7	48	4	2	12.5	6.5	0.0295	0.2500
	S8	31	6	3	15.0	5.0	0.0489	0.2758
	S9	23	4	2	19.5	3.5	0.0459	0.2226
25N 10P								
	S1	41	8	2	16.0	6.0	0.0465	0.3565
	S2	32	9	2	19.0	7.0	0.0681	0.4031
	S3	36	17	2	15.5	7.5	0.0892	0.5338
	S4	52	22	3	19.0	8.0	0.1154	0.7205
	S5	45	17	3	20.0	9.5	0.1166	0.5607
	S6	77	28	9	20.0	7.0	0.1017	0.7688
	S7	52	12	2	17.0	6.0	0.0415	0.3283
	S8	46	16	2	17.0	7.0	0.0650	0.5212
	S9	70	29	3	22.0	5.5	0.0776	0.5826

**Datos no disponibles*

Tabla 3.4 (continuación).- Datos de biomasa de <u>Cistus ladanifer</u> (nº de hojas (NH), de hojas secas (NH_S) y de hojas cloríticas (NH_C), longitud de la raíz (LR) y del tallo (LT) y peso seco de hojas (PSH) y de tallos (PST)) creciendo sobre los sustratos preparados con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra		NH	NH_S	NH_C	LR	LT	PST	PSH
					cm		g	
25N 15P								
	S1	36	10	2	24.0	8.0	0.0670	0.3901
	S2	30	8	2	20.0	6.0	0.0507	0.3389
	S3	44	4	2	17.0	11.0	0.0654	0.2622
	S4	40	15	2	17.0	11.3	0.0979	0.5329
	S5	20	8	2	16.0	8.0	0.0613	0.2753
	S6	42	8	2	22.0	9.0	0.0839	0.5627
	S7	66	22	0	17.0	9.3	0.0714	0.4692
	S8	44	10	6	18.0	7.0	0.0537	0.4673
	S9	72	14	3	16.0	11.0	0.0916	0.4957
25N 30P								
	S1	48	10	1	19.5	7.6	0.0845	0.6045
	S2	20	4	2	14.5	5.0	0.0421	0.4544
	S3	58	16	2	14.0	10	0.0800	0.3793
	S4	57	10	5	18.0	8.0	0.0765	0.6380
	S5	58	25	4	17.0	10	0.1075	0.5138
	S6	39	8	3	21.0	7.0	0.0582	0.7525
	S7	*	*	*	*	*	0.0508	0.4229
	S8	34	12	1	15.0	6.0	0.0439	0.3586
	S9	69	12	3	19.5	6.5	0.0447	0.4210
	S10	33	*	0	9.0	5.0	*	*
50N 0P								
	S1	74	16	0	16.0	10.7	0.1313	0.8715
	S2	88	18	6	21.0	12.2	*	1.5823
	S3	56	18	2	17.0	12.5	0.1471	0.6794
	S4	52	10	0	16.0	12.6	0.1586	0.8906
	S5	46	23	2	19.0	11.0	0.1339	0.8771
	S6	42	10	2	13.0	8.0	*	*
	S7	80	16	4	16.0	13.9	*	1.6680
	S8	86	14	3	17.0	15.0	*	*
	S9	75	24	2	24.5	11.7	0.1190	0.7722
50N 10P								
	S1	94	12	2	17.5	11.0	0.1253	0.9388
	S2	60	10	5	15.5	6.3	0.0889	0.7490
	S3	14	8	*	3.2	3.5	0.0080	0.0434
	S4	*	*	*	*	*	0.0082	0.0482
	S5	14	2	0	11.0	3.6	0.0775	0.6159
	S6	54	6	6	15.0	7.8	0.0013	0.0128
	S7	10	2	*	3.5	2.1	0.1032	0.6307
	S8	55	4	4	26.0	8.2	0.0854	0.6685
	S9	54	6	3	12.0	4.5	0.0308	0.3927
	S10	36	6	2	17.0	6.5	*	*
50N 15P								
	S1	70	14	4	17.0	10.0	0.1358	0.9723
	S2	77	25	5	12.0	6.0	0.0627	0.5321
	S3	52	10	3	18.0	11.4	0.1360	0.7659
	S4	64	14	5	15.0	8.0	0.1050	0.9921
	S5	52	18	4	19.5	12.0	0.1463	0.8292
	S6	77	14	2	16.0	11.0	0.1266	0.7657
	S7	51	17	6	22.0	10.0	0.0907	0.8378
	S9	80	15	5	12.0	6.0	0.0740	0.6109

**Datos no disponibles*

Tabla 3.4 (continuación).- Datos de biomasa de <u>Cistus ladanifer</u> (nº de hojas (NH), de hojas secas (NH_S) y de hojas cloríticas (NH_C), longitud de la raíz (LR) y del tallo (LT) y peso seco de hojas (PSH) y de tallos (PST)) creciendo sobre los sustratos preparados con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra		NH	NH_S	NH_C	LR	LT	PST	PSH
					cm		g	
50N 30P								
	S1	84	16	9	18.0	13.5	0.1733	0.8188
	S2	52	12	4	21.0	12.5	0.1774	0.9263
	S3	68	12	1	16.0	9.0	0.1092	0.8777
	S4	58	16	0	18.0	9.0	0.0751	0.7308
	S5	68	10	3	15.0	12.0	0.1683	1.1270
	S6	56	14	3	21.0	11.3	0.1211	0.8359
	S7	98	22	2	15.0	9.5	0.1088	0.6151
	S8	90	24	6	16.0	10.0	0.1174	0.8621
	S9	78	14	0	18.5	9.5	0.1114	1.0088
CONTROL								
	SC1	14	2	2	15.0	3.6	*	0.1207
	SC2	14	6	2	16.0	2.5	0.0088	0.0665
	SC3	14	6	2	18.0	4.1	0.0165	0.0818
	SC4	12	4	0	14.0	3.4	*	0.0764
	SC5	12	6	0	19.0	3.0	0.0082	0.0851
	SC6	12	6	0	11.0	1.7	0.0029	0.0277
	SC7	14	6	0	12.0	2.0	*	0.0418
	SC8	14	4	4	14.0	2.0	0.0050	0.0563
	SC9	20	4	0	15.0	2.5	*	0.0730
0N 10P								
	SC1	12	4	*	17.0	4.0	0.0119	0.0994
	SC2	14	4	1	22.5	4.5	0.0236	0.1589
	SC3	14	6	2	32.0	6.0	0.0273	0.1899
	SC4	14	6	0	*	3.0	0.0127	0.1201
	SC5	16	8	1	16.0	4.2	0.0212	0.1346
	SC6	12	4	2	12.0	3.4	0.0204	0.1190
	SC7	14	6	2	*	5.3	0.0316	0.2148
	SC8	14	6	0	18.0	2.5	0.0163	0.1995
	SC9	12	2	0	9.0	*	0.0033	0.0139
0N 15P								
	SC1	13	6	0	14.5	2.5	0.0150	0.0818
	SC2	10	0	3	18.0	2.0	0.0055	0.0407
	SC3	18	8	0	18.5	4.0	0.0191	0.1528
	SC4	14	6	0	14.0	4.5	0.0171	0.1341
	SC5	12	4	2	5.0	2.0	0.0039	0.0216
	SC6	31	6	2	19.0	4.5	0.0196	0.0995
	SC7	15	7	0	17.0	2.5	0.0177	0.1485
	SC8	16	6	2	20.0	3.0	0.0149	0.1191
	SC9	12	6	0	14.0	3.2	0.0012	0.0808
0N 30P								
	SC1	12	4	2	15.0	4.5	0.0245	0.1493
	SC2	10	*	*	19.0	3.6	0.0134	0.1003
	SC3	13	4	2	16.5	2.5	0.0155	0.1495
	SC4	16	8	0	12.0	4.0	0.0225	0.1620
	SC5	14	8	0	17.0	3.5	0.0226	0.0923
	SC6	14	7	2	13.4	2.5	0.0065	0.0599
	SC7	12	4	0	11.0	1.5	0.0084	0.1341
	SC8	16	9	1	16.0	4.5	0.0232	0.1248
	SC9	15	9	0	13.0	3.5	0.0260	0.1131
	SC10	10	4	2	13.0	1.5	0.0060	0.0250

**Datos no disponibles*

Tabla 3.4 (continuación).- Datos de biomasa de <u>Cistus ladanifer</u> (nº de hojas (NH), de hojas secas (NH_S) y de hojas cloríticas (NH_C), longitud de la raíz (LR) y del tallo (LT) y peso seco de hojas (PSH) y de tallos (PST)) creciendo sobre los sustratos preparados con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra		NH	NH_S	NH_C	LR	LT	PST	PSH
					cm		g	
10N 0P								
	SC1	33	10	4	18.5	5.5	*	0.4521
	SC2	18	6	2	14.5	2.5	0.0159	0.2227
	SC3	21	6	2	23.0	6.5	*	0.2993
	SC4	16	8	2	22.0	6.0	0.0409	0.2720
	SC5	18	8	0	31.0	6.5	*	0.2424
	SC6	18	6	2	18.0	6.5	0.0590	0.3970
	SC7	24	9	2	20.0	7.5	0.0760	0.3934
	SC8	14	5	1	19.0	6.5	*	0.3053
	SC9	17	7	0	20.0	3.5	0.0187	0.1664
10N 10P								
	SC1	17	8	1	19.0	7.5	0.0622	0.1786
	SC2	14	4	0	24.5	3.0	0.0434	0.2358
	SC3	18	8	0	16.0	6.5	0.0106	0.1286
	SC4	36	8	6	18.0	4.5	0.0387	0.2799
	SC5	16	6	0	18.0	6.5	0.0541	0.3237
	SC6	15	3	3	7.5	3.5	0.0131	0.1510
	SC7	26	7	0	14.0	4.5	0.0464	0.3745
	SC8	16	6	2	14.0	4.0	0.0235	0.1672
	SC9	16	8	2	18.5	7.0	0.0681	0.3028
10N 15P								
	SC1	16	4	0	13.0	4.5	0.0499	0.3908
	SC2	24	10	0	17.0	3.5	0.0171	0.1724
	SC3	18	8	0	17.0	2.5	0.0155	0.1613
	SC4	20	10	0	18.5	5.2	0.0334	0.2640
	SC5	16	4	0	16.0	3.7	0.0034	0.0292
	SC6	15	4	1	20.0	2.0	0.1130	0.1382
	SC7	10	4	0	8.5	2.0	0.0087	0.0661
	SC8	15	7	0	13.5	2.0	0.0129	0.1926
	SC9	15	7	2	6.5	3.0	0.0146	0.0853
10N 30P								
	SC1	22	10	0	32.0	8.5	0.0460	0.1673
	SC2	18	8	0	16.0	7.3	0.0719	0.3528
	SC3	20	4	2	28.0	6.0	0.0612	0.5022
	SC4	34	12	0	17.0	7.7	0.0812	0.5885
	SC5	34	10	2	21.0	5.5	0.0578	0.5520
	SC6	18	8	0	17.0	8.5	0.0968	0.3980
	SC7	31	8	2	17.0	4.0	0.0303	0.3706
	SC8	20	8	2	25.0	5.0	0.0519	0.3118
	SC9	26	8	4	16.0	9.0	0.1215	0.4172
25N 0P								
	SC1	20	6	3	18.0	6.5	0.0736	0.5415
	SC2	26	11	2	15.5	8.5	0.0840	0.5707
	SC3	16	4	2	21.0	7.5	0.0721	0.5834
	SC4	26	8	2	16.0	8.0	0.5210	0.5020
	SC5	16	5	1	15.5	5.5	0.0360	0.4465
	SC6	21	6	2	14.0	6.0	0.0471	0.3030
	SC7	25	10	3	21.5	8.0	0.0876	0.6604
	SC8	34	5	4	16.0	10.0	0.1118	0.7031
	SC9	14	4	*	7.0	3.0	0.0087	0.0810
	SC10	16	1	4	14.5	3.0	0.0075	0.0745

**Datos no disponibles*

Tabla 3.4 (continuación).- Datos de biomasa de <u>Cistus ladanifer</u> (nº de hojas (NH), de hojas secas (NH_S) y de hojas cloríticas (NH_C), longitud de la raíz (LR) y del tallo (LT) y peso seco de hojas (PSH) y de tallos (PST)) creciendo sobre los sustratos preparados con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra		NH	NH_S	NH_C	LR	LT	PST	PSH
					cm		g	
25N 10P								
	SC1	34	10	0	19.0	10.4	0.1124	0.6854
	SC2	32	10	0	16.0	10.5	0.1664	0.6489
	SC3	16	8	0	11.0	5.5	0.0466	0.3092
	SC4	24	8	2	15.0	9.5	0.1158	0.3934
	SC5	18	8	1	20.5	5.5	0.0547	0.4722
	SC6	26	9	2	15.0	4.0	0.0357	0.3483
	SC7	50	18	6	25.0	8.5	0.1296	0.9436
	SC8	12	2	*	3.0	1.5	0.0041	0.0439
	SC9	20	8	4	13.0	8.0	0.1130	0.4650
25N 15P								
	SC1	36	14	0	14.0	7.0	0.0656	0.5316
	SC2	28	8	2	15.0	11.0	0.1242	0.5538
	SC3	26	10	2	17.0	10.3	0.1396	0.7081
	SC4	21	11	0	13.0	8.0	0.1241	0.4745
	SC5	30	10	0	15.5	8.0	0.0852	0.5240
	SC6	38	10	0	16.0	8.5	0.0685	0.5333
	SC7	20	6	3	10.0	6.0	0.0720	0.6570
	SC8	41	9	2	15.0	6.0	0.0651	0.5636
	SC9	37	19	4	10.5	9.5	0.0988	0.6310
25N 30P								
	SC1	42	17	6	19.0	7.0	0.0787	0.5351
	SC2	27	8	2	19.0	7.0	0.0521	0.4812
	SC3	22	6	2	14.5	5.5	0.0473	0.2804
	SC4	29	12	2	12.0	6.0	0.0463	0.2758
	SC5	28	7	3	16.0	8.0	0.0833	0.5742
	SC6	38	8	2	18.0	9.5	0.1104	0.5783
	SC7	44	15	3	20.0	7.5	0.1211	0.7792
	SC8	22	8	2	17.0	8.7	0.0886	0.4823
	SC9	44	8	2	22.5	7.2	0.0743	0.6420
50N 0P								
	SC1	52	12	4	14.0	12.0	0.1444	0.8068
	SC2	36	4	4	15.0	12.1	*	1.6660
	SC3	26	12	2	13.0	11.0	*	1.5734
	SC4	38	8	2	14.0	13.0	0.1702	0.6634
	SC5	54	14	2	*	10.0	0.1139	0.7704
	SC6	32	14	0	21.0	10.0	*	*
	SC7	55	21	4	18.0	12.5	0.1509	1.0237
	SC9	40	12	2	19.0	12.5	*	*
50N 10P								
	SC1	32	12	3	16.0	8.5	0.0874	0.5260
	SC2	16	6	0	14.0	7.5	0.0914	0.4578
	SC3	46	12	4	21.0	10.0	0.1556	1.2350
	SC4	32	2	2	13.0	9.0	0.0981	0.6231
	SC5	*	*	0	15.0	9.5	0.1542	0.9959
	SC6	50	12	0	*	12.5	0.2272	1.1914
	SC7	72	12	0	11.0	8.0	0.1083	1.0420
	SC8	22	2	0	11.0	6.5	0.0498	0.3486
	SC9	44	15	1	14.0	7.5	0.0803	0.6452
	SC10	70	0	0	19.0	7.2	0.0251	0.2164

**Datos no disponibles*

Tabla 3.4 (continuación).- Datos de biomasa de <u>Cistus ladanifer</u> (nº de hojas (NH), de hojas secas (NH_S) y de hojas cloríticas (NH_C), longitud de la raíz (LR) y del tallo (LT) y peso seco de hojas (PSH) y de tallos (PST)) creciendo sobre los sustratos preparados con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra		NH	NH_S	NH_C	LR	LT	PST	PSH
					cm		g	
50N 15P								
	SC1	28	8	2	20.0	10.7	0.0746	0.5843
	SC2	36	10	1	14.0	8.5	0.0609	0.3638
	SC3	40	15	3	12.0	13.0	0.2010	1.2728
	SC4	32	10	3	14.0	11.0	0.1150	0.7588
	SC5	55	19	7	19.0	9.0	0.0720	0.4769
	SC6	22	2	2	12.0	7.0	0.0565	0.1274
	SC7	34	12	0	16.0	7.7	0.0615	0.4544
	SC8	32	8	1	17.0	7.0	0.0572	0.3968
	SC10	65	*	2	22.0	9.0	0.1288	0.8331
50N 30P								
	SC1	27	7	2	19.0	12.8	0.1720	1.1090
	SC2	36	10	1	28.0	13.5	0.1908	1.0858
	SC3	56	19	3	23.0	11.0	0.1393	0.9785
	SC4	34	6	4	21.0	10.8	0.1329	1.0014
	SC5	44	14	2	15.0	12.5	0.1574	1.0284
	SC6	44	12	2	21.0	13.0	0.1755	1.0109
	SC7	36	6	2	18.0	13.0	0.1800	0.9672
	SC8	38	15	2	22.0	8.5	0.1153	0.8717
	SC9	14	6	*	5.0	2.5	0.0062	0.0668

**Datos no disponibles*

Tabla 3.5.- Concentración de metales pesados en hojas y tallos de <u>Cistus ladanifer</u> creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd y Pb no fueron detectados en ninguna muestra; n.d.= No detectado.)

Muestra	Co_{Hojas}	Cu_{Hojas}	Mn_{Hojas}	Ni_{Hojas}	Zn_{Hojas}	Muestra	Co_{Tallos}	Cu_{Tallos}	Mn_{Tallos}	Ni_{Tallos}	Zn_{Tallos}
	mg kg^{-1}						mg kg^{-1}				
CONTROL						**CONTROL**					
S1+2	42.11	15.79	3859.65	52.63	94.74						
S3+4	42.55	10.64	3191.49	36.17	91.49	S3+4+7+9+	48.78	8.13	521.95	117.07	107.32
S5+6	45.06	15.99	3052.33	55.23	109.01						
S7+9	33.23	n.d.	2416.92	27.19	120.85						
0N 10P						**0N 10P**					
S1+2	17.80	6.53	1602.37	11.28	68.25	S1+2+3+5	30.00	n.d.	586.67	76.67	93.33
S3+5	25.93	11.85	2000.00	15.56	95.56	S4+6+9	52.33	9.69	534.88	139.53	122.09
S4+6	34.12	8.64	2584.17	24.11	104.64						
S7+8	27.31	8.69	2292.10	19.45	95.57	S7+8	n.d.	n.d.	742.19	74.22	78.13
S9	32.92	8.23	1893.00	25.72	96.71						
0N 15P						**0N 15P**					
S1+2	29.39	8.07	2708.93	19.02	142.36	S1+2	79.37	n.d.	634.92	285.71	285.71
S3+4	25.48	9.42	2382.27	16.62	134.07	S3+4	80.00	n.d.	666.67	226.67	186.67
S5+6	33.88	9.84	3672.13	33.88	125.68	S5+6	64.05	18.05	*	193.74	*
S7+8	32.46	10.61	2771.54	32.46	120.47	S7+8+9+10	32.79	n.d.	416.39	68.85	101.64
S9+10	30.47	12.03	3111.47	32.88	177.23						
0N 30P						**0N 30P**					
S1+2	30.37	8.76	3212.62	15.77	155.37	S1+2+7	38.31	n.d.	628.35	80.46	91.95
S3+4	31.69	8.99	2932.83	21.29	152.79	S3+4	n.d.	n.d.	597.83	97.83	103.26
S5+6	32.14	8.93	2714.29	23.81	119.64	S5+6	75.76	n.d.	454.55	287.88	242.42
S7	61.10	10.43	3248.88	50.67	122.21						
S8+9	3.72	1.29	271.84	6.80	19.09	S8+9	57.04	13.57	*	155.39	*
10N 0P						**10N 0P**					
S1+3	20.37	5.16	2294.89	15.78	97.53	S1+3	n.d.	n.d.	600.00	41.82	47.27
S2+4	21.16	34.48	2131.66	19.98	97.18	S2+4	n.d.	8.85	619.47	36.87	56.05
S5+7	18.18	4.04	1919.19	14.14	83.50	S5+7	n.d.	n.d.	698.20	51.80	63.06
S6+8	19.89	6.84	1678.06	17.40	93.23	S6+8	n.d.	n.d.	562.66	58.82	79.28
S9	22.13	8.63	3324.34	22.13	125.74	S9	n.d.	n.d.	2150.17	85.32	88.74

**Datos no disponibles*

Tabla 3.5 (continuación).- Concentración de metales pesados en hojas y tallos de <u>Cistus ladanifer</u> creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd y Pb no fueron detectados en ninguna muestra; n.d.= No detectado.)

Muestra	Co_{Hojas}	Cu_{Hojas}	Mn_{Hojas}	Ni_{Hojas}	Zn_{Hojas}	Muestra	Co_{Tallos}	Cu_{Tallos}	Mn_{Tallos}	Ni_{Tallos}	Zn_{Tallos}
	mg kg^{-1}						mg kg^{-1}				
10N 10P						**10N 10P**					
S1+3	17.22	7.49	1684.13	15.34	79.72	S1+3	n.d.	n.d.	637.79	28.88	56.56
S2+4	24.70	7.14	2525.39	18.39	109.80	S2+4	16.43	n.d.	1009.39	61.03	70.42
S5+9	31.95	5.99	1837.06	19.97	52.72	S5+9	22.22	n.d.	592.59	77.78	66.67
S6	13.91	5.02	1700.15	14.68	54.87	S6	19.50	n.d.	779.94	61.28	100.28
S7+8	11.98	8.65	1896.21	15.97	91.15	S7+8	14.13	n.d.	627.94	37.68	64.36
10N 15P						**10N 15P**					
S1+6	21.45	9.31	1821.13	21.45	83.37	S1+6	n.d.	n.d.	618.56	36.08	54.98
S2+3	17.57	6.33	2460.46	18.28	84.71	S2+3	30.96	n.d.	371.52	71.21	92.88
S4+5	21.54	6.46	2010.77	17.24	91.92	S4+5	23.11	n.d.	420.17	50.42	92.44
S7+10?	18.96	9.16	2211.69	16.75	97.95	S7+10?	14.63	n.d.	511.88	43.88	80.44
S8+9	16.10	7.04	1609.66	19.11	40.74	S8+9	n.d.	n.d.	615.71	40.34	61.57
10N 30P						**10N 30P**					
S1+2	21.75	7.83	2435.84	17.40	97.00	S1+2	n.d.	n.d.	627.38	36.12	66.54
S3+4	20.54	9.29	3080.68	18.58	113.94	S3+4	22.95	n.d.	655.74	65.57	75.41
S5+6	28.67	10.94	2338.74	21.50	105.62	S5+6	n.d.	43.48	766.05	140.79	86.96
S7+8	31.06	73.76	2810.56	23.29	100.93	S7+8	n.d.	n.d.	686.27	93.14	117.65
S9+10	25.21	10.74	2066.12	24.38	93.80	S9+10	n.d.	n.d.	339.29	41.07	67.86
25N 0P						**25N 0P**					
S1+4	15.69	7.53	1914.63	12.24	69.05	S1+4	n.d.	6.44	875.16	37.32	54.05
S2+3	17.58	5.41	135.23	13.30	72.12	S2+3	n.d.	7.90	947.68	39.49	61.20
S5+9	18.49	10.27	2436.16	14.97	127.68	S5+9	n.d.	n.d.	669.64	51.34	113.84
S6+7	20.35	10.38	1528.24	20.76	84.72	S6+7	n.d.	n.d.	2771.08	66.27	93.37
S8	10.57	7.49	1021.58	18.49	95.11	S8	n.d.	n.d.	267.00	133.33	186.67
25N 10P						**25N 10P**					
S1+4	16.52	6.23	1527.43	14.96	68.58	S1+4	5.80	n.d.	601.89	29.73	60.19
S2+3	19.66	7.86	2246.56	14.60	64.59	S2+3	7.79	3.89	560.75	27.26	49.07
S5+8	16.58	6.91	1934.37	14.16	68.05	S5+8	6.44	3.22	902.06	21.26	68.94
S6+9	16.02	5.45	2690.58	15.05	60.22	S6+9	10.01	n.d.	689.66	30.03	58.95
S7	16.60	12.17	4980.63	26.56	94.08	S7	32.41	n.d.	740.74	106.48	120.37

Tabla 3.5 (continuación).- Concentración de metales pesados en hojas y tallos de <u>Cistus ladanifer</u> creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd y Pb no fueron detectados en ninguna muestra; n.d.= No detectado.)

Muestra	Co_{Hojas}	Cu_{Hojas}	Mn_{Hojas}	Ni_{Hojas}	Zn_{Hojas}	Muestra	Co_{Tallos}	Cu_{Tallos}	Mn_{Tallos}	Ni_{Tallos}	Zn_{Tallos}
	mg kg^{-1}						mg kg^{-1}				
25N 15P						**25N 15P**					
S1+4	22.82	7.17	2868.32	16.30	78.88	S1+4	10.08	n.d.	617.13	32.75	51.64
S2+3	24.36	6.96	2494.20	20.88	136.89						
S5	16.33	6.53	2693.88	19.18	73.47	S5	19.32	n.d.	748.79	62.80	96.62
S6+8	17.90	5.73	2792.70	18.26	77.69	S6+8	10.10	n.d.	818.18	31.31	61.62
S7+9	18.42	8.06	2302.38	18.04	89.03	S7+9	4.34	6.51	940.67	31.11	49.20
25N 30P						**25N 30P**					
S1+6	11.62	5.58	1440.52	15.80	49.72	S1+6	n.d.	5.37	769.23	30.41	43.83
S2+3	17.53	5.26	1694.92	12.86	9.35	S2+3	9.91	n.d.	759.91	34.14	68.28
S4+5	17.22	5.45	1664.75	14.64	52.24	S4+5	7.73	3.86	901.48	23.82	55.38
S8+9	18.93	7.93	1981.51	16.73	103.48	S8+9	n.d.	7.53	813.25	40.66	63.25
S10	18.97	6.83	2200.30	16.69	76.63						
50N 0P						**50N 0P**					
S1+3	17.89	4.73	3682.27	14.73	98.90	S1+3	5.02	6.27	920.12	20.08	41.82
S2+6	19.40	5.35	187.29	21.40	86.96	S2+6	2.45	4.41	377.45	19.61	47.06
S4+5	12.07	3.86	2172.86	12.07	73.39	S4+5	2.40	5.60	800.32	18.41	52.02
S7+8	21.02	7.23	2102.50	21.02	78.84	S7+8	1.82	6.90	617.73	15.99	39.97
S9	15.56	7.11	2755.56	15.56	57.78	S9	n.d.	18.27	682.10	29.23	43.85
50N 10P						**50N 10P**					
S1+2	17.43	6.87	2164.95	13.75	73.64	S1+2	5.29	6.46	881.32	21.74	51.70
S3+5	26.72	7.35	984.53	26.72	70.32						
S6+8	12.84	7.09	1372.90	15.94	97.43	S6+8	4.22	6.75	657.67	29.51	53.96
S7+9	16.84	8.08	2155.61	13.47	83.53	S7+9	9.03	4.51	722.02	26.17	58.66
50N 15P						**50N 15P**					
S1+2	16.74	6.60	2029.43	17.76	95.89	S1+2	n.d	5.73	611.08	21.64	43.92
S3+4	17.14	6.00	2342.86	14.29	72.00	S3+4	7.17	3.59	717.36	22.96	43.04
S5+7	15.06	5.52	2008.03	18.57	96.39	S5+7	n.d	5.19	726.90	23.88	41.02
S6+9	13.49	9.78	2360.88	12.48	84.65						
50N 30P						**50N 30P**					
S1+3	15.38	6.95	2531.02	19.35	119.11	S1+3	n.d.	5.65	879.40	23.87	46.48
S2+4	14.21	6.48	2152.11	12.33	100.29	S2+4	2.56	5.63	511.51	20.97	54.22
S5+6	15.81	5.78	2144.23	14.27	84.84	S5+6	3.86	5.02	757.05	19.70	66.43
S7+9	15.75	10.62	2431.51	15.75	89.04	S7+9	n.d.	7.84	783.80	27.43	48.99
S8	18.89	6.94	1426.37	13.88	68.23	S8	5.13	6.15	697.44	25.64	54.36

Tabla 3.5 (continuación).- Concentración de metales pesados en hojas y tallos de <u>Cistus ladanifer</u> creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd y Pb no fueron detectados en ninguna muestra; n.d.= No detectado.)

Muestra	Co_{Hojas}	Cu_{Hojas}	Mn_{Hojas}	Ni_{Hojas}	Zn_{Hojas}	Muestra	Co_{Tallos}	Cu_{Tallos}	Mn_{Tallos}	Ni_{Tallos}	Zn_{Tallos}
			mg kg^{-1}						mg kg^{-1}		
CONTROL						**CONTROL**					
SC1+4	19.23	5.77	2500.00	23.08	108.33	SC1+4+5+8	34.09	n.d.	549.24	75.76	71.97
SC2+3	26.53	9.15	2195.79	27.45	75.94	SC2+3	n.d.	n.d.	642.20	110.09	128.44
SC5+8	21.28	12.95	3034.23	25.90	76.78						
SC6	n.d.	n.d.	8181.82	109.09	236.36	SC6+7+9	n.d.	9.14	*	92.92	*
SC7+9	38.70	10.84	3560.37	37.15	120.74						
0N 10P						**0N 10P**					
SC1+4	22.63	7.78	2263.08	25.46	108.20	SC1+4	n.d.	5.76	*	65.24	52.38
SC2+5	19.10	9.17	2139.04	18.33	73.34	SC2+5	n.d.	n.d.	520.00	84.00	96.00
SC3+7	25.03	7.74	2093.76	18.21	87.85	SC3+7	n.d.	n.d.	621.30	50.30	82.84
SC6+9	31.68	6.93	2673.27	19.80	127.72	SC6+8+9	27.30	n.d.	511.95	61.43	78.50
SC8	21.21	24.52	2968.85	21.21	73.56						
0N 15P						**0N 15P**					
SC1+2	34.44	8.89	2888.89	22.22	142.22	SC1+2	39.62	11.20	*	135.25	*
SC3+7	24.90	10.18	2150.13	13.58	137.31	SC3+5+7	36.10	n.d.	512.64	68.59	115.52
SC4+6	21.20	7.87	2241.07	23.02	94.49	SC4+6	30.67	n.d.	552.15	128.83	104.29
SC5	n.d.	n.d.	2285.71	180.95	171.43						
SC8+9	2.24	9.08	2823.20	25.86	132.77	SC8+9	52.08	n.d.	625.00	208.33	156.25
0N 30P						**0N 30P**					
SC1+3	29.43	12.26	2844.53	22.56	127.02	SC1+3	n.d.	n.d.	500.00	81.82	90.91
SC2+4	24.69	6.40	2917.24	20.12	73.62	SC2+4	n.d.	n.d.	783.13	84.34	72.29
SC5+7	29.51	9.62	2411.80	21.17	106.48	SC5+7+9	33.76	n.d.	599.16	71.73	101.27
SC6+8	19.26	9.63	3016.69	21.82	123.88	SC6+8	n.d.	n.d.	516.78	107.38	100.67
SC9	33.16	8.93	2806.12	36.99	80.36						
10N 0P						**10N 0P**					
SC1+3	17.38	5.92	1816.75	11.85	52.53	SC1+3	n.d.	14.31	930.23	23.26	*
SC2+4	21.31	9.77	186.50	16.87	72.38	SC2+4	n.d.	17.70	4424.78	32.45	55.46
SC5+8	21.41	7.67	2396.93	13.10	106.42	SC5+8	n.d.	10.23	1608.19	21.93	82.60
SC6+7	19.25	5.92	1974.33	12.34	71.08	SC6+7	n.d.	8.88	719.92	26.63	77.49
SC9	26.54	11.71	3434.82	29.66	78.84	SC9	n.d.	12.78	*	26.07	54.24

**Datos no disponibles*

Tabla 3.5 (continuación).- Concentración de metales pesados en hojas y tallos de <u>Cistus ladanifer</u> creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd y Pb no fueron detectados en ninguna muestra; n.d.= No detectado.)

Muestra	Co_{Hojas}	Cu_{Hojas}	Mn_{Hojas}	Ni_{Hojas}	Zn_{Hojas}	Muestra	Co_{Tallos}	Cu_{Tallos}	Mn_{Tallos}	Ni_{Tallos}	Zn_{Tallos}
			mg kg^{-1}						mg kg^{-1}		
10N 10P						**10N 10P**					
SC1+2	19.97	9.20	1996.85	18.39	124.01	SC1+2	33.04	3.86	*	121.76	*
SC3+5	17.45	7.05	1707.50	15.59	54.19	SC3+5	12.90	n.d.	752.69	58.06	73.12
SC4+9	19.06	8.07	1711.89	17.44	58.14	SC4+9	5.89	n.d.	647.82	31.80	45.94
SC6+8	26.39	6.05	1759.21	25.29	57.17	SC6+8	95.24	n.d.	793.65	317.46	158.73
SC7	13.39	5.02	2009.21	16.74	52.74	SC7	18.12	n.d.	398.55	79.71	97.83
10N 15P						**10N 15P**					
SC1+3	19.62	7.45	2040.02	17.26	96.12	SC1+3	34.24	7.56	*	86.16	*
SC2+4	n.d.	8.21	2144.16	19.62	72.54	SC2+4	16.45	n.d.	690.79	62.50	108.55
SC5+6	22.41	8.40	2240.90	26.14	87.77	SC5+6+7+9	52.02	n.d.	566.47	109.83	98.27
SC7+9	23.47	9.08	2271.01	24.98	115.82						
SC8	23.46	9.97	2580.65	24.05	114.37						
10N 30P						**10N 30P**					
SC1+2	17.75	8.11	2281.95	18.26	74.04	SC1+2	n.d.	5.68	761.36	30.68	51.14
SC3+6	25.99	3.54	2048.05	18.12	94.13	SC3+6	3.73	9.69	476.90	27.57	58.87
SC4+5	14.97	6.55	1449.95	14.03	81.85	SC4+5	n.d.	n.d.	730.96	26.40	74.11
SC7+8	22.28	9.95	1695.19	23.88	135.30	SC7+8	n.d.	12.41	319.15	53.19	97.52
SC9	20.97	9.24	2076.08	17.77	80.70	SC9	n.d.	12.22	655.56	38.89	86.67
25N 0P						**25N 0P**					
SC1+2	18.20	6.27	1694.30	12.94	68.74	SC1+2	4.16	4.99	831.95	26.62	*
SC3+5	16.89	5.09	1849.37	10.72	66.47	SC3+5	n.d.	n.d.	701.36	31.67	59.90
SC4+8	16.65	6.14	1965.91	11.49	71.34	SC4+8	n.d.	8.73	960.70	22.71	61.09
SC6+7	13.14	5.43	1600.00	10.29	58.57	SC6+7	n.d.	5.73	734.73	28.63	52.40
SC9+10?	14.58	7.29	1562.50	21.88	72.92	SC9+10?	n.d.	5.33	*	27.41	58.21
25N 10P						**25N 10P**					
SC1+3	17.08	8.06	2094.75	11.60	112.15	SC1+3	n.d.	4.99	723.19	24.11	50.71
SC2+5	13.04	7.77	2386.90	16.38	108.24	SC2+5	5.35	n.d.	649.85	24.46	53.52
SC4+8	22.94	11.08	1740.51	15.82	138.84	SC4+8	6.44	n.d.	793.99	31.12	68.67
SC6+7	16.04	8.91	1960.78	14.26	59.12	SC6+7	9.22	n.d.	414.75	32.26	50.69
SC9	15.01	5.13	2709.63	15.01	52.73	SC9	8.71	n.d.	381.26	29.41	39.22

**Datos no disponibles*

Tabla 3.5 (continuación).- Concentración de metales pesados en hojas y tallos de Cistus ladanifer creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de fertilización (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd y Pb no fueron detectados en ninguna muestra; n.d.= No detectado.)

Muestra	Co_{Hojas}	Cu_{Hojas}	Mn_{Hojas}	Ni_{Hojas}	Zn_{Hojas}	Muestra	Co_{Tallos}	Cu_{Tallos}	Mn_{Tallos}	Ni_{Tallos}	Zn_{Tallos}
	mg kg^{-1}						mg kg^{-1}				
25N 15P						**25N 15P**					
SC1+2	24.81	7.94	3770.78	19.10	104.19	SC1+2	7.43	n.d.	929.37	26.95	51.12
SC3+6	12.21	6.78	1932.86	15.26	49.85	SC3+6	n.d.	3.78	592.31	21.42	41.59
SC4+5	17.78	5.49	2197.80	16.16	69.81	SC4+5	6.28	n.d.	493.72	25.13	54.76
SC7+8	18.19	6.35	2049.65	12.99	86.32	SC7+8	6.64	n.d.	815.17	32.23	51.18
SC9	22.49	4.87	1724.14	17.24	72.34	SC9	7.60	n.d.	506.97	34.22	65.91
25N 30P						**25N 30P**					
SC1+5	19.16	4.93	2025.18	13.96	50.90	SC1+5	5.78	n.d.	866.43	26.71	52.71
SC2+3	18.58	6.67	1333.97	15.72	75.75	SC2+3	n.d.	n.d.	675.11	35.16	66.10
SC4	18.08	6.51	1590.74	18.08	75.92	SC4	37.43	n.d.	641.71	106.95	155.08
SC6+8	21.08	7.74	1978.49	14.62	80.86	SC6+8	4.26	6.08	851.58	20.68	45.01
SC7+9	10.99	6.17	1662.20	9.38	45.04	SC7+9	3.62	3.62	602.77	19.89	41.59
50N 0P						**50N 0P**					
SC1+4	21.84	5.22	2611.59	16.62	189.46	SC1+4	n.d.	5.67	527.21	23.24	58.96
SC2+9	20.60	6.12	2561.25	19.49	92.43	SC2+9	3.46	3.84	614.44	17.28	50.31
SC3+6	20.29	7.85	3075.92	22.25	115.18	SC3+6	4.59	5.67	890.69	18.89	66.40
SC5+7	18.86	7.44	2034.74	14.39	112.66	SC5+7	3.46	6.93	952.38	20.35	52.38
50N 10P						**50N 10P**					
SC1+4	15.36	9.12	2304.37	20.64	107.54	SC1+4	n.d.	7.46	746.27	28.49	62.42
SC2+3	21.84	6.33	1852.34	13.76	87.37	SC2+3	n.d.	6.75	934.58	20.77	59.71
SC5	19.21	11.70	2617.05	12.61	96.04	SC5	n.d.	8.30	332.10	22.14	60.89
SC6+9	18.72	5.08	1774.49	11.09	55.45	SC6+9	n.d.	4.34	1060.75	15.91	37.13
SC7+8	14.17	7.82	1416.71	16.61	231.07	SC7+8	n.d.	6.59	518.95	27.18	53.54
SC10	14.94	7.97	2390.44	31.87	154.38						
50N 15P						**50N 15P**					
SC1+3	15.23	5.08	2030.46	13.20	86.29	SC1+3	4.43	4.43	469.86	28.37	48.76
SC2+4	20.23	8.94	1881.47	19.29	92.19	SC2+4	n.d.	7.63	901.53	23.58	53.40
SC5+7	15.62	8.14	2408.07	14.97	80.38	SC5+7	5.14	5.14	822.20	28.78	76.05
SC6+10	14.18	6.36	1515.89	16.63	71.39	SC6+10	n.d.	6.61	955.18	27.19	50.70
SC8	18.23	3.73	1491.3	14.91	55.92	SC8	29.41	n.d.	529.41	111.76	117.65
50N 30P						**50N 30P**					
SC1+2	12.43	5.52	1795.58	16.11	81.95	SC1+2	3.71	6.18	927.07	19.47	52.53
SC3+4	16.35	5.70	1787.07	18.25	76.43	SC3+4	2.02	6.45	927.42	27.82	46.77
SC5+6	16.21	5.93	2015.81	16.60	57.31	SC5+6	1.64	4.91	817.80	21.26	50.38
SC7+9	20.70	6.56	1766.78	18.17	133.77	SC7+9	n.d.	6.93	651.87	22.19	45.08
SC8	11.65	6.59	1317.12	10.30	74.30	SC8	n.d.	n.d.	272.87	40.13	41.73

Tabla 3.6.- Caracterìsticas generales de los sustratos tras el tratamiento de acidificación y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (NP: sin planta, S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (n.d.= No detectado: Al_{CIC} <0.11).

Muestra	pH	pH_{KCl}	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}	Al_{CIC}
					cmol(+) kg^{-1}		
pH 4-NP	4.6	4.6	30	4.12	0.04	0.04	0.34
pH 5-NP	5.9	6.4	13	1.15	0.04	0.06	n.d.
pH 6-NP	6.5	6.8	18	1.48	0.04	0.07	n.d.
pH 7-NP	7.0	7.1	9	0.82	0.04	0.06	n.d.
pH 4							
S1	6.1	5.7	25	2.30	0.04	0.05	n.d.
S2	6.3	6.0	24	2.80	0.10	0.05	n.d.
S3	6.4	6.0	26	3.95	0.09	0.05	n.d.
S4	6.3	5.9	27	2.47	0.07	0.05	n.d.
S5	5.8	5.9	31	2.30	0.05	0.05	n.d.
S6	6.5	6.0	27	1.48	0.05	0.05	n.d.
S7	6.3	6.0	23	2.47	0.05	0.04	n.d.
S8	6.0	5.9	25	1.98	0.05	0.05	n.d.
pH 5							
S1	5.9	6.5	13	0.82	0.04	0.05	n.d.
S2	5.4	6.2	14	1.48	0.07	0.05	n.d.
S3	6.1	6.6	9	0.82	0.05	0.06	n.d.
S4	6.0	6.3	10	1.48	0.11	0.05	n.d.
S5	5.9	6.3	15	0.99	0.04	0.05	n.d.
S6	5.9	6.4	27	1.15	0.06	0.05	n.d.
S7	5.9	6.4	10	0.99	0.06	0.05	n.d.
S8	6.1	6.5	10	0.82	0.05	0.06	n.d.
pH 6							
S1	6.9	6.7	17	1.32	0.04	0.05	n.d.
S2	6.7	6.8	8	1.15	0.06	0.06	n.d.
S3	6.7	6.7	18	1.32	0.06	0.05	n.d.
S4	6.8	6.8	18	1.48	0.05	0.06	n.d.
S5	6.7	6.7	15	1.32	0.05	0.05	n.d.
S6	6.8	6.7	8	1.32	0.06	0.06	n.d.
S7	6.5	6.5	13	1.32	0.05	0.06	n.d.
S8	6.2	6.1	22	1.65	0.07	0.05	n.d.
pH 7							
S1	6.2	6.4	15	1.32	0.06	0.05	n.d.
S2	6.2	6.4	11	0.99	0.05	0.05	n.d.
S3	6.1	6.4	10	0.99	0.05	0.06	n.d.
S4	5.9	6.2	15	1.15	0.06	0.06	n.d.
S5	5.9	6.3	11	1.15	0.06	0.06	n.d.
S6	6.3	6.6	14	1.15	0.08	0.06	n.d.
S7	6.3	6.5	18	0.82	0.05	0.06	n.d.
S8	6.2	6.5	10	1.15	0.08	0.07	n.d.
pH 4							
SC1	6.1	6.1	24	2.14	0.06	0.05	n.d.
SC2	6.3	*	33	4.44	0.08	0.04	n.d.
SC3	6.2	5.9	25	1.98	n.d.	0.04	n.d.
SC4	6.2	6.0	23	1.98	0.07	0.05	n.d.
SC5	6.2	6.0	25	2.63	0.07	0.05	n.d.
SC6	6.2	6.1	28	2.47	0.07	0.05	n.d.
SC7	6.1	6.1	25	1.81	0.06	0.04	n.d.
SC8	6.2	6.2	24	1.48	*	0.05	n.d.
pH 5							
SC1	6.1	6.4	9	1.32	0.07	0.06	n.d.
SC2	6.1	6.3	13	0.99	0.06	0.05	n.d.
SC3	6.1	6.3	10	1.48	0.08	0.05	n.d.
SC4	6.0	6.3	9	0.99	*	0.05	n.d.
SC5	5.9	6.3	21	1.32	0.07	0.05	n.d.
SC6	6.0	6.3	17	0.99	0.05	0.07	n.d.
SC7	6.0	6.3	11	1.15	0.05	0.06	n.d.
SC8	6.2	6.3	11	0.99	0.06	0.06	n.d.

**Datos no disponibles*

Tabla 3.6 (continuación).- Caracterìsticas generales de los sustratos tras el tratamiento de acidificación y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (NP: sin planta, S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (n.d.= No detectado: Al_{CIC} <0.11).

Muestra	pH	pH_{KCl}	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}	Al_{CIC}
					cmol(+) kg^{-1}		
pH 6							
SC1	6.8	6.7	16	1.32	0.06	0.06	n.d.
SC2	6.7	6.6	13	1.15	0.05	0.06	n.d.
SC3	6.8	6.7	10	1.15	0.06	0.06	n.d.
SC4	6.8	6.7	12	1.32	0.07	0.06	n.d.
SC5	6.8	6.8	27	1.48	0.08	0.08	n.d.
SC6	6.8	6.7	13	1.32	0.06	0.06	n.d.
SC7	6.8	6.7	20	1.32	0.05	0.05	n.d.
SC8	6.7	6.7	18	1.15	0.06	0.07	n.d.
pH 7							
SC1	7.1	7.2	9	0.82	0.06	0.06	n.d.
SC2	7.1	7.2	9	0.63	0.05	0.06	n.d.
SC3	7.1	7.2	9	0.59	0.05	0.06	n.d.
SC4	7.2	7.2	8	0.58	0.04	0.06	n.d.
SC5	7.1	7.1	10	0.56	0.04	0.05	n.d.
SC6	6.8	7.2	9	0.61	0.05	0.06	n.d.
SC7	7.0	7.2	9	0.56	0.05	0.06	n.d.
SC8	6.9	7.2	9	0.59	0.05	0.05	n.d.

Tabla 3.7.- Concentración total de metales pesados y de la fracción biodisponible extraíble en EDTA en los sustratos tras el tratamiento de acidificación y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (NP: sin planta, S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd_{TOTAL} <5 mg kg^{-1}/ Cd_{EDTA} y Cr_{EDTA} <0.25 mg kg^{-1} en todas las muestras). (n.d.= No detectado: Pb_{TOTAL} < 25).

Muestra	Cr_{Total}	Cu_{Total}	Cu_{EDTA}	Co_{Total}	Co_{EDTA}	Mn_{Total}	Mn_{EDTA}	Pb_{Total}	Pb_{EDTA}	Ni_{Total}	Ni_{EDTA}	Zn_{Total}	Zn_{EDTA}
							mg kg^{-1}						
pH 4-NP	22	26	4.5	17	4.0	620	117.5	n.d.	4.6	38	3.3	70	2.8
pH 5-NP	24	25	4.0	18	2.0	580	100.0	n.d.	5.0	38	2.4	90	4.5
pH 6-NP	23	28	4.5	17	2.0	620	89.0	29	7.0	38	1.0	70	2.0
pH 7-NP	19	33	4.5	16	2.0	610	81.5	25	7.0	38	1.0	60	2.0
pH 4													
S1	23	26	4.0	16	3.0	590	115.5	n.d.	3.5	39	1.6	60	2.1
S2	22	25	4.0	17	3.5	610	125.0	n.d.	4.0	39	1.8	70	2.1
S3	18	21	4.5	16	4.0	580	137.0	n.d.	4.0	35	2.0	60	2.7
S4	19	31	4.0	16	3.0	600	115.0	29	4.0	41	1.3	60	2.0
S5	19	21	4.5	14	2.5	610	106.0	n.d.	4.5	36	1.1	70	1.9
S6	20	24	4.5	18	3.5	630	121.5	26	4.0	38	2.1	70	2.5
S7	23	28	4.0	18	3.5	640	136.0	27	3.5	40	1.3	70	2.1
S8	19	30	4.5	14	3.5	560	126.0	n.d.	4.0	34	1.5	60	2.3
pH 5													
S1	21	23	5.5	15	4.0	550	127.5	n.d.	*	38	4.0	90	7.5
S2	21	39	4.5	15	2.0	540	85.0	n.d.	5.0	36	2.2	90	4.8
S3	18	36	4.0	20	2.5	560	119.0	27	5.0	50	2.4	70	4.9
S4	19	31	4.0	15	2.5	540	117.0	n.d.	5.0	39	2.4	100	4.8
S5	19	52	5.5	16	3.5	540	123.5	n.d.	6.0	42	3.5	70	7.0
S6	18	30	5.0	24	3.5	560	134.5	n.d.	6.0	48	3.6	70	6.5
S7	18	51	4.5	16	2.5	600	97.5	n.d.	5.0	39	2.3	70	4.9
S8	17	30	4.5	19	3.0	530	110.5	n.d.	5.5	39	3.0	80	5.4
pH 6													
S1	18	35	5.0	22	2.0	600	93.5	n.d.	6.5	43	1.6	60	2.4
S2	18	28	5.5	16	3.5	570	125.0	n.d.	8.0	45	1.8	60	*
S3	18	32	4.5	18	2.0	610	92.5	n.d.	7.5	35	1.2	60	2.2
S4	18	26	4.5	13	2.3	590	101.5	n.d.	7.0	32	1.5	60	2.4
S5	19	44	4.5	24	2.5	580	102.5	26	7.5	47	1.7	70	2.4
S6	18	31	5.0	15	2.5	620	105.5	n.d.	7.5	43	1.4	60	2.4
S7	17	30	4.5	20	2.5	560	97.5	29	7.0	40	1.4	220	2.4
S8	18	23	4.0	15	3.0	610	114.0	n.d.	6.5	33	1.3	60	2.0

**Datos no disponibles*

Tabla 3.7 (continuación).- Concentración total de metales pesados y de la fracción biodisponible extraíble en EDTA en los sustratos tras el tratamiento de acidificación y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (NP: sin planta, S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd_{TOTAL} <5 mg kg^{-1}/ Cd_{EDTA} y Cr_{EDTA} <0.25 mg kg^{-1} en todas las muestras). (n.d.= No detectado: Pb_{TOTAL} < 25).

Muestra	Cr_{Total}	Cu_{Total}	Cu_{EDTA}	Co_{Total}	Co_{EDTA}	Mn_{Total}	Mn_{EDTA}	Pb_{Total}	Pb_{EDTA}	Ni_{Total}	Ni_{EDTA}	Zn_{Total}	Zn_{EDTA}
	mg kg^{-1}												
pH 7													
S1	20	27	5.0	16	3.0	600	99.0	n.d.	6.5	39	1.6	70	2.0
S2	18	24	5.8	16	4.0	580	121.5	n.d.	8.5	38	1.8	60	2.4
S3	20	27	4.5	18	3.5	600	94.5	25	6.5	40	1.5	70	2.0
S4	19	26	4.5	16	4.5	560	123.0	25	8.5	39	1.7	60	2.3
S5	19	26	4.5	18	3.0	600	75.5	n.d.	6.0	36	1.3	70	1.9
S6	19	22	4.5	15	3.5	620	107.5	25	7.0	36	1.6	60	2.1
S7	18	21	4.0	19	3.0	590	100.0	n.d.	6.5	34	1.6	60	2.1
S8	20	33	5.0	18	4.0	590	116.0	25	9.0	39	1.6	60	2.3
pH 4													
SC1	20	37	4.5	24	2.5	600	113.0	n.d.	4.6	46	1.3	60	2.3
SC2	18	24	3.8	17	2.5	560	119.0	n.d.	4.5	37	1.3	60	2.1
SC3	18	22	3.5	15	1.5	560	82.0	n.d.	3.8	36	1.0	70	2.3
SC4	18	25	3.5	14	2.5	590	96.5	n.d.	3.5	35	1.0	60	2.0
SC5	21	38	4.0	18	2.5	590	110.0	26	4.0	42	1.4	60	2.2
SC6	20	28	4.0	16	2.0	590	102.0	29	3.0	38	1.1	70	2.0
SC7	20	29	4.0	20	2.0	570	86.5	n.d.	3.0	40	1.1	70	1.8
SC8	20	22	4.5	20	3.0	640	101.5	n.d.	4.0	37	1.2	60	2.0
pH 5													
SC1	20	25	5.0	16	3.5	540	123.5	n.d.	5.5	38	3.4	80	7.0
SC2	21	39	4.0	20	2.5	760	100.0	n.d.	5.0	41	2.5	70	4.8
SC3	20	27	4.0	16	2.5	530	102.5	n.d.	5.0	39	2.7	70	5.0
SC4	21	25	5.0	14	4.0	610	131.5	n.d.	5.5	39	4.3	80	6.5
SC5	21	23	4.5	14	3.0	600	122.5	n.d.	5.5	39	2.6	70	5.0
SC6	24	23	4.5	17	3.0	600	123.5	45	6.0	41	3.2	100	4.9
SC7	21	26	5.0	15	3.5	560	114.0	n.d.	6.0	38	3.0	80	6.5
SC8	22	28	4.0	16	3.0	580	108.0	26	5.0	39	2.2	90	4.9

Tabla 3.7 (continuación).- Concentración total de metales pesados y de la fracción biodisponible extraíble en EDTA en los sustratos tras el tratamiento de acidificación y el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (NP: sin planta, S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd_{TOTAL} <5 mg kg^{-1}/ Cd_{EDTA} y Cr_{EDTA} <0.25 mg kg^{-1} en todas las muestras). (n.d.= No detectado: Pb_{TOTAL} < 25).

Muestra	Cr_{Total}	Cu_{Total}	Cu_{EDTA}	Co_{Total}	Co_{EDTA}	Mn_{Total}	Mn_{EDTA}	Pb_{Total}	Pb_{EDTA}	Ni_{Total}	Ni_{EDTA}	Zn_{Total}	Zn_{EDTA}
	mg kg^{-1}												
pH 6													
SC1	20	26	5.0	16	3.0	600	121.0	n.d.	7.0	36	1.6	60	2.3
SC2	18	26	5.0	17	2.5	580	103.5	n.d.	7.5	36	1.5	60	2.2
SC3	19	39	5.5	16	3.0	610	118.0	n.d.	8.0	37	1.6	70	2.4
SC4	17	28	5.8	16	3.0	570	110.5	n.d.	8.0	35	1.7	60	2.5
SC5	18	28	5.5	15	3.0	580	117.0	n.d.	8.0	38	1.7	60	2.9
SC6	17	30	5.0	17	2.5	590	91.0	n.d.	7.0	38	1.5	60	2.2
SC7	19	39	5.0	22	2.5	620	97.5	29	7.5	43	1.6	70	2.4
SC8	19	25	5.0	16	2.0	590	95.5	n.d.	6.5	36	1.4	60	2.1
pH 7													
SC1	17	46	5.5	18	2.5	600	110.0	n.d.	6.5	37	1.1	60	1.9
SC2	19	25	6.5	16	4.0	600	126.5	n.d.	8.5	33	1.5	60	*
SC3	18	35	5.0	21	2.5	580	92.5	25	6.0	38	1.0	70	2.1
SC4	18	27	5.0	19	2.5	580	109.5	n.d.	6.5	34	1.1	70	1.9
SC5	18	29	5.0	17	2.5	590	104.5	25	6.0	33	1.0	60	2.1
SC6	18	27	5.8	15	3.5	580	121.0	n.d.	7.5	35	1.2	60	2.3
SC7	18	35	6.0	18	3.0	590	104.5	n.d.	9.0	35	1.2	60	2.1
SC8	18	34	5.8	17	3.0	640	99.0	n.d.	6.5	37	1.2	70	2.0

**Datos no disponibles*

Tabla 3.8.- Datos de biomasa de <u>Cistus ladanifer</u> (nº de hojas (NH) y de hojas cloríticas (NH_C), longitud del tallo (LT), peso fresco de hojas (PFH) y de tallos (PFT) y peso seco de hojas (PSH), de tallos (PST) y de raíces (PSR)) creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de acidificación (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra	NH	NH_C	LT	PFH	PFT	PSH	PST	PSR
			cm			g		
pH 4								
S1	60	0	21.0	2.988	0.611	0.690	0.191	0.096
S2	72	0	22.0	2.530	0.468	0.531	0.159	0.099
S3	104	0	18.5	2.175	0.374	0.449	0.101	0.071
S4	56	0	21.5	2.867	0.527	0.631	0.162	0.109
S5	42	0	19.5	2.870	0.480	0.527	0.156	0.079
S6	16	*	2.8	0.038	0.013	*	*	*
S7	52	0	27.0	2.734	0.528	0.751	0.207	0.167
S8	62	0	23.5	2.410	0.433	0.473	0.139	0.052
pH 5								
S1	42	0	13.0	0.906	0.130	0.162	0.034	0.019
S2	66	0	28.5	3.368	0.861	0.821	0.310	0.175
S3	43	0	11.5	0.920	0.155	0.252	0.054	0.042
S4	87	0	25.0	5.107	0.867	1.302	0.291	0.172
S5	84	0	25.5	3.120	0.810	1.013	0.337	0.182
S6	62	0	19.0	2.690	0.520	0.839	0.210	0.124
S7	126	0	20.0	2.496	0.529	0.750	0.189	0.086
S8	22	0	14.5	0.778	0.158	0.204	0.051	0.034
pH 6								
S1	33	0	17.5	1.780	0.350	0.586	0.148	0.145
S2	20	0	6.0	0.135	0.027	0.029	0.009	0.002
S3	41	0	21.0	2.513	0.513	0.721	0.200	0.111
S4	31	3	12.5	0.688	0.121	0.154	0.035	0.030
S5	64	0	20.0	1.827	0.383	0.365	0.138	0.086
S6	72	0	14.0	2.640	0.365	0.782	0.145	0.145
S7	40	0	9.0	0.564	0.068	0.138	0.019	0.014
S8	54	0	11.5	1.538	0.237	0.254	0.042	0.037
pH 7								
S1	59	0	14.0	1.171	0.180	0.220	0.053	0.040
S2	84	11	18.5	1.874	0.371	0.514	0.144	0.100
S3	39	0	11.0	1.210	0.190	0.270	0.063	0.033
S4	24	0	7.0	0.420	0.057	0.092	0.017	0.025
S5	27	7	10.5	0.985	0.133	0.261	0.053	0.061
S6	52	0	10.5	1.225	0.174	0.210	0.039	0.031
S7	39	0	11.5	1.140	0.170	0.338	0.065	0.049
S8	40	0	14.0	1.340	0.236	0.224	0.064	0.037
pH 4								
SC1	26	0	6.5	0.345	0.060	0.075	0.020	0.017
SC2	46	0	18.0	2.001	0.330	0.484	0.117	0.079
SC3	28	0	16.0	1.320	0.230	0.317	0.085	0.052
SC4	22	0	11.6	0.957	0.148	0.180	0.043	0.039
SC5	32	0	12.0	1.360	0.200	0.271	0.061	0.049
SC6	22	0	8.5	0.333	0.059	0.078	0.017	0.012
SC7	30	0	13.5	1.259	0.234	0.288	0.082	0.052
SC8	22	0	9.0	0.530	0.095	0.151	0.037	0.020
pH 5								
SC1	67	0	18.0	2.784	0.481	0.608	0.140	0.073
SC2	27	0	14.5	1.038	0.197	0.174	0.049	0.029
SC3	56	0	18.5	3.175	0.540	0.999	0.199	0.133
SC4	34	3	13.0	1.017	0.240	0.249	0.083	0.078
SC5	60	0	18.0	3.250	0.550	1.108	0.222	0.154
SC6	14	0	5.0	0.120	0.025	0.025	0.006	0.005
SC7	29	0	12.0	1.740	0.285	0.438	0.095	0.074
SC8	37	0	13.5	0.695	0.163	0.133	0.042	0.028

**Datos no disponibles*

Tabla 3.8 (continuación).- Datos de biomasa de <u>Cistus ladanifer</u> (nº de hojas (NH) y de hojas cloríticas (NH_C), longitud del tallo (LT), peso fresco de hojas (PFH) y de tallos (PFT) y peso seco de hojas (PSH) de tallos (PST) y de raíces (PSR)) creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de acidificación (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos).

Muestra	NH	NH_C	LT	PFH	PFT	PSH	PST	PSR
			cm			g		
pH 6								
SC1	24	0	15.0	1.630	0.280	0.449	0.108	0.049
SC2	50	0	16.0	1.316	0.260	0.316	0.070	0.044
SC3	24	0	8.0	0.308	0.064	0.097	0.022	0.021
SC4	24	0	19.0	1.480	0.360	0.484	0.145	0.075
SC5	20	0	8.0	0.370	0.050	0.090	0.014	0.013
SC6	23	0	8.5	0.378	0.074	0.103	0.025	0.024
SC7	48	1	14.0	2.370	0.308	0.785	*	0.157
SC8	20	0	10.5	0.576	0.114	0.159	0.039	0.023
pH 7								
SC1	50	0	10.5	1.030	0.140	0.219	0.050	0.040
SC2	26	0	11.5	1.052	0.143	0.222	0.046	0.036
SC3	25	0	10.0	0.764	0.102	0.163	0.030	0.023
SC4	20	0	14.0	1.060	0.210	0.311	0.083	0.074
SC5	25	2	14.0	1.525	0.245	0.465	0.107	0.072
SC6	24	0	9.0	0.580	0.125	0.141	0.044	0.032
SC7	22	3	4.5	0.240	0.033	0.050	0.066	0.012
SC8	24	0	11.0	0.820	0.157	0.150	0.040	0.016

**Datos no disponibles*

Tabla 3.9.- Concentración de metales pesados en hojas y tallos de <u>Cistus ladanifer</u> creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de acidificación (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd y Pb en hojas y tallos < 5 y < 10 mg kg^{-1}, respectivamente, en todas las muestras; Co y Cu en tallos < 5 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestra	Co_{Hojas}	Cu_{Hojas}	Mn_{Hojas}	Ni_{Hojas}	Zn_{Hojas}	Mn_{Tallos}	Ni_{Tallos}	Zn_{Tallos}
				mg kg^{-1}				
pH 4								
S1	19	9	2500	11	96	421	12	45
S2	20	29	3000	20	220	600	19	77
S3	27	9	1900	14	180	410	20	96
S4	30	9	3000	12	150	670	11	56
S5	26	7	2600	7	81	680	5	50
S7	22	14	1600	12	120	390	9	46
S8	13	9	1600	15	140	470	12	60
pH 5								
S1	16	4	2344	31	97	563	28	84
S2	17	9	3200	19	200	700	16	45
S3	12	3	900	16	51	220	36	72
S4	16	7	2300	29	120	510	23	69
S5	10	6	2400	17	140	290	19	45
S6	13	5	2000	16	66	240	20	48
S7	16	9	2300	22	160	520	23	80
S8	25	8	1750	30	111	500	32	90
pH 6								
S1	9	6	850	12	48	250	13	40
S2	11	7	430	14	60	7	2	4
S3	10	5	760	11	37	190	11	33
S4	18	12	1030	27	120	433	30	73
S5	10	10	860	20	73	140	18	40
S6	6	8	780	16	50	120	12	43
S8	36	16	3200	27	240	7000	375	1250

Tabla 3.9 (continuación).- Concentración de metales pesados en hojas y tallos de <u>Cistus ladanifer</u> creciendo sobre los sustratos con diferentes tratamientos de acidificación (S: población procedente de serpentinita, SC: población procedente de esquistos). (Cd y Pb en hojas y tallos < 5 y < 10 mg kg^{-1}, respectivamente, en todas las muestras; Co y Cu en tallos < 5 mg kg^{-1} en todas las muestras).

Muestra	Co_{Hojas}	Cu_{Hojas}	Mn_{Hojas}	Ni_{Hojas}	Zn_{Hojas}	Mn_{Tallos}	Ni_{Tallos}	Zn_{Tallos}
				mg kg^{-1}				
pH 7								
S1	11	13	886	24	159	260	20	102
S2	9	9	360	15	50	220	24	43
S3	9	8	1400	23	65	217	27	53
S4	17	9	784	15	52	424	31	64
S5	11	10	2100	13	120	453	17	51
S6	14	10	1074	30	51	*	*	*
S7	9	6	410	10	50	200	5	58
S8	13	7	835	18	62	283	17	45
pH 4								
SC1	24	9	3000	13	110	741	19	63
SC2	29	20	3100	12	130	630	10	71
SC3	28	7	2300	16	73	463	6	45
SC4	38	10	2361	10	58	544	4	56
SC5	28	10	3000	10	67	517	4	47
SC6	27	4	2000	7	61	*	*	*
SC7	28	7	3200	13	65	488	11	39
pH 5								
SC1	23	8	3000	21	86	510	20	43
SC2	21	10	2206	25	206	490	22	98
SC3	17	6	1800	13	120	370	15	44
SC4	14	10	1815	21	106	475	23	49
SC5	11	3	1400	13	74	216	15	39
SC6	18	9	1800	20	150	2200	120	370
SC7	16	6	2300	12	88	322	12	51
pH 6								
SC1	9	5	530	12	31	190	10	35
SC2	9	12	480	15	45	129	13	39
SC3	3	7	230	11	47	67	10	46
SC4	3	3	270	10	38	90	10	29
SC5	6	7	400	13	42	70	22	51
SC7	8	8	770	14	40	130	11	25
pH 7								
SC1	6	6	161	14	40	82	24	76
SC2	3	11	193	20	70	44	24	53
SC3	4	9	219	20	45	47	27	33
SC4	3	3	90	9	31	25	14	27
SC5	3	5	110	12	43	37	14	28
SC6	4	11	268	16	71	*	*	*
SC7	16	10	80	38	64	67	31	47
SC8	3	10	280	25	50	*	*	*

**Datos no disponibles*

ANEXO 4

ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL ENSAYO DE BIOACUMULACIÓN DE Zn (CAPÍTULO 5)

Tabla 4.1.- Características generales, concentración total, biodisponible y especiación de Zn en suelo no rizosférico con distintos niveles de contaminación (NC/LC/MC/FC) tras el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (Cis(S): población procedente de serpentinitas / Cis(SC): población procedente de esquistos), <u>Cytisus scoparius</u> (Cyt) y <u>Salix viminalis</u> (Sal). (n.d.= No detectado: Na_{ClC} <0.04 / Zn_{NH4Cl} <1).

Muestra	pH	pH_{KCl}	Ca_{ClC}	Mg_{ClC}	Na_{ClC}	K_{ClC}	Al_{ClC}	DOC^a	%C	%N	Zn_{Total}	Zn_{EDTA}	Zn_{NH4Cl}	Zn_{CAM}	Zn_{OX}	Zn_{OR-SUL}
			cmol(+) kg^{-1}					mg kg^{-1}			mg kg^{-1}					
NC	5.0	4.6	1.98	0.12	0.04	0.14	0.47	13.00	1.45	0.10	66	2.2	n.d.	2.4	1.8	6.0
NC-Cis(S)_2	6.0	4.8	2.02	0.08	n.d.	0.13	0.22	27.00	1.07	0.09	64	0.5	n.d.	1.6	2.4	5.5
NC-Cis(S)_4	5.7	4.7	2.05	0.08	0.04	0.13	0.27	12.13	1.12	0.08	63	0.5	n.d.	1.6	2.8	5.8
NC-Cis(S)_6	6.1	4.7	2.01	0.07	n.d.	0.09	0.30	11.73	1.26	0.07	61	2.1	n.d.	1.4	2.0	4.0
NC-Cis(S)_8	5.6	4.8	2.22	0.09	n.d.	0.14	0.30	30.00	1.20	0.09	68	1.0	n.d.	2.0	2.4	*
NC-Cis(S)_10	5.3	4.7	2.07	0.11	n.d.	0.13	0.47	25.28	1.35	0.08	59	0.8	n.d.	4.0	2.8	6.8
NC-Cis(SC)_2	5.7	4.7	1.93	0.07	n.d.	0.07	0.30	31.85	1.15	0.07	67	0.8	n.d.	1.2	2.2	5.0
NC-Cis(SC)_4	5.9	4.7	1.99	0.07	n.d.	0.12	0.35	25.00	1.20	0.07	60	0.8	n.d.	1.8	2.4	5.0
NC-Cis(SC)_6	5.8	4.5	1.90	0.08	n.d.	0.08	0.30	16.85	1.39	0.09	65	2.4	n.d.	1.6	2.4	5.0
NC-Cis(SC)_8	5.6	4.6	1.92	0.07	n.d.	0.10	0.27	*	1.18	0.08	65	0.9	n.d.	1.4	2.4	6.8
NC-Cis(SC)_10	5.7	4.7	2.03	0.10	0.04	0.12	0.37	53.00	1.22	0.07	58	0.5	n.d.	1.4	2.4	5.3
NC-Cyt_1	5.5	4.7	1.94	0.07	n.d.	0.12	0.32	16.50	1.19	0.10	56	0.8	n.d.	2.0	2.4	7.0
NC-Cyt_2	5.9	4.7	1.95	0.04	n.d.	0.11	0.32	29.45	1.11	0.09	63	0.6	n.d.	2.4	2.4	5.5
NC-Cyt_3	5.4	4.8	2.15	0.09	0.04	0.14	0.27	26.13	1.16	0.07	60	0.7	n.d.	1.8	2.6	4.5
NC-Cyt_5	5.8	4.7	1.94	0.04	n.d.	0.10	0.35	38.25	1.15	0.07	67	0.8	n.d.	1.6	2.0	3.8
NC-Cyt_6	5.8	4.7	2.04	0.03	n.d.	0.09	0.37	37.75	1.21	0.08	55	0.7	n.d.	1.4	1.8	3.8
NC-Cyt_7	6.1	4.6	1.94	0.04	n.d.	0.08	0.40	35.63	1.15	0.08	57	0.8	1.8	2.0	2.8	5.3
NC-Sal_2	5.8	4.7	*	*	*	*	*	27.00	1.17	0.08	55	0.4	n.d.	2.2	2.6	4.5
NC-Sal_4	5.8	4.6	1.78	0.03	n.d.	0.08	0.40	33.75	1.14	0.07	56	0.7	n.d.	1.8	2.4	5.3
NC-Sal_6	5.7	4.8	2.08	0.04	0.04	0.10	0.32	22.50	1.16	0.07	60	1.0	n.d.	1.8	2.2	5.5
NC-Sal_8	5.8	4.7	2.10	0.04	0.04	0.08	0.35	46.25	1.25	0.07	63	1.1	n.d.	2.6	2.8	7.8
NC-Sal_10	5.9	4.8	2.03	0.05	0.04	0.12	0.35	39.00	1.13	0.08	58	1.4	n.d.	2.4	2.8	7.3
LC	4.8	4.5	1.14	0.27	0.04	0.09	0.94	29.65	1.27	0.08	210	9.0	3.2	14.8	12.6	192.5
LC-Cis(S)_2	5.0	4.4	1.29	0.37	n.d.	0.07	0.86	17.45	1.21	0.10	310	8.5	2.0	14.8	15.4	117.5
LC-Cis(S)_4	5.4	4.6	1.42	0.44	n.d.	0.09	0.64	28.55	1.09	0.06	440	7.5	2.0	18.4	18.4	*
LC-Cis(S)_6	5.2	4.5	1.43	0.33	n.d.	0.07	0.64	29.13	1.31	0.10	270	10.0	2.2	16.6	16.0	250.0
LC-Cis(S)_8	4.9	4.5	1.18	0.33	n.d.	0.08	0.89	25.78	1.16	0.08	320	8.0	2.0	16.2	15.0	122.5
LC-Cis(S)_10	5.1	4.5	1.08	0.27	n.d.	0.05	0.79	8.20	1.11	0.07	250	8.0	2.0	14.0	14.8	300.0
LC-Cis(SC)_2	5.3	4.5	1.40	0.40	n.d.	0.08	0.64	29.25	1.11	0.08	230	9.0	1.8	18.4	17.8	222.5
LC-Cis(SC)_4	5.3	4.5	1.31	0.38	n.d.	0.11	0.62	21.18	1.19	0.08	240	10.0	2.2	17.0	16.8	237.5
LC-Cis(SC)_6	5.3	4.6	1.30	0.40	n.d.	0.13	0.54	27.45	1.10	0.10	350	8.5	2.0	17.8	17.6	247.5
LC-Cis(SC)_8	5.3	4.4	1.32	0.37	n.d.	0.09	0.74	20.53	1.06	0.09	400	8.0	2.0	17.4	16.8	122.5
LC-Cis(SC)_10	5.2	4.4	1.25	0.37	n.d.	0.06	0.77	25.38	1.16	0.08	270	9.0	1.8	15.2	15.2	207.5

*a- DOC= Carbono orgánico disuelto / *Datos no disponibles*

Tabla 4.1 (continuación).- Características generales, concentración total, biodisponible y especiación de Zn en suelo no rizosférico con distintos niveles de contaminación (NC/LC/MC/FC) tras el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (Cis(S): población procedente de serpentinitas / Cis(SC): población procedente de esquistos), <u>Cytisus scoparius</u> (Cyt) y <u>Salix viminalis</u> (Sal). (n.d.= No detectado: Na_{CIC} <0.04 / Zn_{NH4Cl} <1).

Muestra	pH	pH_{KCl}	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}	Al_{CIC}	DOC	%C	%N	Zn_{Total}	Zn_{EDTA}	Zn_{NH4Cl}	Zn_{CAM}	Zn_{OX}	Zn_{OR-SUL}
			cmol(+) kg^{-1}					mg kg^{-1}			mg kg^{-1}					
LC-Cys_2	5.2	4.4	1.15	0.24	n.d.	0.06	0.67	33.15	1.23	0.09	250	7.0	2.0	18.0	16.0	97.5
LC-Cys_3	5.6	4.5	1.98	0.46	n.d.	0.13	0.99	28.00	1.10	0.06	250	7.5	1.8	14.8	14.8	220.0
LC-Cys_5	5.4	4.6	1.35	0.22	n.d.	0.06	0.69	26.13	1.18	0.07	300	*	1.8	16.8	15.4	172.5
LC-Cys_8	5.3	4.5	1.30	0.29	n.d.	0.07	0.69	28.33	1.09	0.09	280	8.5	2.0	*	*	*
LC-Cys_9	5.4	4.5	1.04	0.15	n.d.	0.05	0.84	*	*	*	460	8.0	1.4	14.6	12.8	122.5
LC-Cys_10	5.5	4.6	1.25	0.31	n.d.	0.07	0.59	24.78	1.15	0.07	430	5.5	1.6	19.4	16.6	150.0
LC-Sal_2	5.6	4.5	*	*	*	*	*	28.75	1.15	0.08	410	4.5	n.d.	14.8	14.6	232.5
LC-Sal_4	5.7	4.5	1.22	0.33	n.d.	0.09	0.47	31.73	0.94	0.08	325	7.0	1.2	14.8	14.0	165.0
LC-Sal_6	5.6	4.5	1.18	0.27	n.d.	0.07	0.54	33.75	1.16	0.08	420	6.0	1.6	19.0	17.4	180.0
LC-Sal_8	5.8	4.6	*	*	*	*	*	23.13	1.07	0.08	370	*	*	17.8	18.0	267.5
LC-Sal_10	5.7	4.6	1.18	0.26	n.d.	0.09	0.57	11.50	0.99	0.06	340	5.5	1.6	16.6	16.6	247.5
MC	5.0	4.5	1.12	0.26	n.d.	0.08	0.81	24.38	1.11	0.07	710	23.5	12.0	32.0	14.0	662.5
MC-Cis(S)_2	5.2	4.7	1.57	0.49	n.d.	0.09	0.57	26.25	1.15	0.08	470	17.5	6.8	32.0	18.0	107.5
MC-Cis(S)_4	5.4	4.8	1.49	0.46	n.d.	0.13	0.44	25.25	1.18	0.07	500	22.5	5.0	34.0	34.0	475.0
MC-Cis(S)_6	5.8	4.8	1.62	0.49	n.d.	0.15	0.25	13.83	1.42	0.06	640	26.5	8.6	40.0	38.0	550.0
MC-Cis(S)_8	5.5	4.6	1.44	0.46	n.d.	0.08	0.54	21.03	1.42	0.08	510	20.0	12.0	34.0	32.0	350.0
MC-Cis(S)_10	5.7	4.8	1.68	0.49	n.d.	0.14	0.30	38.50	1.25	0.09	470	19.5	5.0	36.0	32.0	227.5
MC-Cis(SC)_2	5.6	4.9	1.73	0.60	n.d.	0.13	0.35	36.25	1.16	0.10	620	26.0	5.4	34.0	32.0	950.0
MC-Cis(SC)_4	5.4	4.7	1.40	0.44	n.d.	0.07	0.52	27.13	1.02	0.07	*	20.0	18.0	32.0	28.0	300.0
MC-Cis(SC)_6	5.6	4.7	1.64	0.49	n.d.	0.09	0.37	38.75	1.16	0.08	850	27.5	9.4	28.0	28.0	350.0
MC-Cis(SC)_8	5.6	4.7	1.67	0.44	n.d.	0.09	0.32	29.75	1.28	0.11	530	20.0	5.2	36.0	32.0	525.0
MC-Cis(SC)_10	5.8	4.8	1.57	0.49	n.d.	0.10	0.62	30.23	1.16	0.06	420	20.0	4.2	26.0	28.0	937.5
MC-Cys_2	5.7	4.7	1.52	0.40	n.d.	0.08	0.40	41.50	1.25	0.09	460	19.5	3.6	28.0	28.0	1000.0
MC-Cys_3	5.6	4.6	1.47	0.38	n.d.	0.08	0.32	34.63	1.17	0.10	450	16.5	4.2	26.0	24.0	240.0
MC-Cys_5	5.7	4.7	1.69	0.44	n.d.	0.09	0.44	37.25	1.19	0.09	470	14.5	3.8	32.0	28.0	350.0
MC-Cys_6	5.6	4.6	1.43	0.35	n.d.	0.07	0.67	29.50	1.11	0.07	470	15.5	3.4	24.0	24.0	550.0
MC-Cys_10	5.7	4.6	1.49	0.42	n.d.	0.09	0.42	35.75	1.11	0.06	430	21.0	4.0	34.0	32.0	265.0
MC-Sal_2	5.7	4.7	1.50	0.44	n.d.	0.10	0.40	36.13	1.18	0.09	460	19.0	3.6	28.0	26.0	925.0
MC-Sal_4	5.6	4.6	1.40	0.40	n.d.	0.09	0.49	30.88	1.08	0.06	470	18.0	4.4	28.0	26.0	210.0
MC-Sal_6	5.7	4.8	1.70	0.68	n.d.	0.15	0.22	29.73	1.09	0.07	650	20.5	4.8	32.0	34.0	235.0
MC-Sal_8	5.9	4.9	1.73	0.49	n.d.	0.16	0.12	27.25	1.04	0.06	520	26.0	8.0	42.0	40.0	190.0
MC-Sal_10	5.7	4.8	1.52	0.46	n.d.	0.12	0.32	25.25	1.06	0.08	580	22.0	4.8	36.0	34.0	425.0

Tabla 4.1 (continuación).- Características generales, concentración total, biodisponible y especiación de Zn en suelo no rizosférico con distintos niveles de contaminación (NC/LC/MC/FC) tras el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (Cis(S): población procedente de serpentinitas / Cis(SC): población procedente de esquistos), <u>Cytisus scoparius</u> (Cyt) y <u>Salix viminalis</u> (Sal). (n.d.= No detectado: Na_{CIC} <0.04 / Zn_{NH4Cl} <1).

Muestra	pH	pH_{KCl}	Ca_{CIC}	Mg_{CIC}	Na_{CIC}	K_{CIC}	Al_{CIC}	DOC	%C	%N	Zn_{Total}	Zn_{EDTA}	Zn_{NH4Cl}	Zn_{CAM}	Zn_{OX}	Zn_{OR-SUL}
			cmol(+) kg^{-1}					mg kg^{-1}			mg kg^{-1}					
FC	5.1	4.5	1.00	0.35	n.d.	0.07	0.79	38.13	1.27	0.08	1070	52.5	20.0	60.0	29.0	1150.0
FC-Cis(S)_2	5.3	4.7	1.38	0.70	n.d.	0.06	0.49	19.52	1.29	0.09	1440	33.0	13.0	48.0	36.0	2250.0
FC-Cis(S)_4	5.3	4.5	1.33	0.70	n.d.	0.06	0.54	28.38	1.30	0.08	1440	33.0	12.0	38.0	36.0	1350.0
FC-Cis(S)_6	5.5	4.8	1.40	0.68	n.d.	0.06	0.42	34.38	1.33	0.08	1290	42.5	16.0	44.0	36.0	950.0
FC-Cis(S)_8	5.4	4.7	1.30	0.64	n.d.	0.06	0.49	8.03	1.31	0.10	1320	33.0	14.0	42.0	36.0	662.5
FC-Cis(S)_10	5.3	4.7	1.47	0.84	n.d.	0.07	0.57	33.33	1.30	0.09	2000	25.0	14.0	44.0	38.0	775.0
FC-Cis(SC)_2	5.5	4.6	1.46	0.80	n.d.	0.07	0.40	12.70	1.32	0.09	1260	36.5	20.0	50.0	40.0	725.0
FC-Cis(SC)_4	5.7	4.7	1.46	0.75	n.d.	0.07	0.35	13.95	1.28	0.10	670	*	20.0	62.0	44.0	1275.0
FC-Cis(SC)_6	5.3	4.8	1.51	0.77	n.d.	0.07	0.35	14.13	1.30	0.11	1180	35.0	14.0	42.0	38.0	650.0
FC-Cis(SC)_8	5.2	4.8	1.44	0.79	n.d.	0.07	0.44	47.00	1.30	0.10	1900	31.5	15.0	50.0	40.0	700.0
FC-Cis(SC)_10	5.5	4.7	1.36	0.71	n.d.	0.06	0.42	27.50	1.45	0.07	910	37.5	18.0	60.0	46.0	725.0
FC-Cys_2	5.5	4.7	1.33	0.49	n.d.	0.05	0.47	46.38	1.50	0.09	1410	25.5	12.0	50.0	36.0	1275.0
FC-Cys_3	5.7	4.7	1.47	0.62	n.d.	0.05	0.47	55.75	1.53	0.06	800	23.5	12.0	42.0	38.0	1262.5
FC-Cys_4	5.6	4.8	1.51	0.84	n.d.	0.07	0.32	23.00	1.31	0.10	1210	32.0	14.0	46.0	42.0	1025.0
FC-Cys_5	5.4	4.7	1.36	0.46	n.d.	0.05	0.37	44.75	1.38	0.07	1820	41.0	20.0	50.0	42.0	2625.0
FC-Cys_6	5.5	4.8	1.31	0.68	n.d.	0.07	0.40	33.75	1.25	0.08	930	31.5	16.0	52.0	46.0	1050.0
FC-Cys_7	5.6	4.7	1.16	0.44	n.d.	0.06	0.49	31.25	1.47	0.07	750	40.0	16.0	52.0	41.0	1050.0
FC-Cys_8	5.7	4.7	1.19	0.55	n.d.	0.06	0.42	36.75	1.42	0.07	1590	28.5	10.0	40.0	36.0	625.0
FC-Cys_9	5.4	4.7	1.44	0.68	n.d.	0.06	0.47	33.25	1.30	0.10	1070	27.5	14.0	46.0	40.0	950.0
FC-Cys_10	5.1	4.7	1.39	0.73	n.d.	0.06	0.59	31.00	1.35	0.11	890	31.0	14.0	46.0	40.0	962.5
FC-Sal_2	5.5	4.7	1.76	1.04	n.d.	0.10	0.30	30.88	1.34	0.08	1240	39.0	16.0	60.0	50.0	850.0
FC-Sal_4	5.8	4.9	1.73	0.91	n.d.	0.09	0.22	45.25	1.39	0.10	1190	28.5	11.0	48.0	42.0	1200.0
FC-Sal_6	5.5	4.8	1.54	0.73	n.d.	0.09	0.37	30.63	1.28	0.10	*	37.0	14.0	46.0	38.0	462.5
FC-Sal_8	5.8	4.9	1.58	0.77	n.d.	0.08	0.25	35.25	1.16	0.08	1080	26.0	10.0	46.0	42.0	575.0
FC-Sal_10	5.5	4.7	1.56	0.82	n.d.	0.08	0.40	30.88	1.25	0.09	1030	36.0	18.0	76.0	50.0	1875.0

**Datos no disponibles*

Tabla 4.2.- Características generales, concentración total, biodisponible y especiación de Zn en suelo rizosférico con distintos niveles de contaminación (NC/LC/MC/FC) tras el crecimiento de Cistus ladanifer (Cis(S): población procedente de serpentinitas / Cis(SC): población procedente de esquistos), Cytisus scoparius (Cyt) y Salix viminalis (Sal).

Muestra	pH	DOC[a]	%C	%N	Zn_{Total}	Zn_{EDTA}	Zn_{CAM}	Zn_{OX}	Zn_{OR-SUL}
		mg kg^{-1}			mg kg^{-1}				
NC-Cis(S)_1+2	5.5	588.5	3.25	0.21	73	1.7	2.6	3.2	4.5
NC-Cis(S)_3+4	5.6	325.0	2.77	0.18	76	1.6	2.4	3.4	6.5
NC-Cis(S)_5+6	5.4	459.6	2.51	0.16	70	1.5	2.2	3.4	4.5
NC-Cis(S)_7+8	5.4	229.5	2.29	0.17	70	1.4	1.8	2.6	5.8
NC-Cis(S)_9+10	5.4	438.0	2.76	0.19	74	1.2	2.0	2.8	4.8
NC-Cis(SC)_1+2	5.4	502.0	2.91	0.18	68	1.2	2.0	2.4	3.8
NC-Cis(SC)_3+4	5.5	607.5	2.38	0.16	70	1.7	2.0	3.8	6.0
NC-Cis(SC)_5+6	5.3	588.6	2.59	0.17	70	1.7	2.2	2.4	4.8
NC-Cis(SC)_7+8	5.4	530.4	2.87	0.17	70	1.6	2.2	2.8	5.3
NC-Cis(SC)_9+10	5.2	386.0	2.49	0.16	73	1.0	1.8	2.2	10.3
NC-Cyt_1	5.7	235.5	2.45	0.22	67	1.0	1.4	2.4	6.8
NC-Cyt_2	6.0	364.5	2.71	0.21	67	1.2	2.8	2.8	4.5
NC-Cyt_3	5.5	88.5	1.92	0.18	61	1.4	1.8	2.6	4.3
NC-Cyt_5	5.6	277.5	2.17	0.13	70	1.4	2.8	2.4	5.3
NC-Cyt_6	5.3	377.0	2.75	0.22	66	1.5	2.2	2.4	5.3
NC-Cyt_7	5.2	404.5	2.92	0.18	71	1.6	1.8	2.4	5.8
NC-Sal_1+2	5.4	295.5	2.51	0.17	73	1.6	2.2	3.4	12.5
NC-Sal_3+4	5.5	325.5	2.25	0.15	67	1.3	2.0	2.8	7.3
NC-Sal_5+6	5.5	249.0	2.36	0.15	64	1.2	1.6	2.6	8.0
NC-Sal_7+8	5.5	470.0	2.58	0.17	70	1.3	2.2	3.2	5.5
NC-Sal_9+10	5.6	527.3	2.59	0.18	72	2.4	2.8	3.2	7.0
LC-Cis(S)_1+2	5.1	166.0	2.80	0.20	300	13.6	19.6	18.2	175.0
LC-Cis(S)_3+4	5.5	377.0	2.09	0.15	460	15.1	22.0	19.4	*
LC-Cis(S)_5+6	5.3	115.0	2.01	0.15	340	11.5	20.0	18.6	175.0
LC-Cis(S)_7+8	4.9	333.5	3.24	0.24	350	18.6	21.4	16.8	150.0
LC-Cis(S)_9+10	4.8	216.0	2.21	0.17	480	8.0	16.6	16.0	132.5
LC-Cis(SC)_1+2	5.1	409.0	2.67	0.18	450	13.6	24.0	18.8	275.0
LC-Cis(SC)_3+4	5.2	349.4	2.67	0.21	390	23.1	29.8	19.4	200.0
LC-Cis(SC)_5+6	5.4	398.5	2.80	0.19	360	19.6	24.4	21.0	127.5
LC-Cis(SC)_7+8	5.4	142.5	2.17	0.16	380	19.6	22.8	20.0	275.0
LC-Cis(SC)_9+10	5.2	312.5	2.72	0.20	410	25.1	31.6	20.6	150.0
LC-Cys_2	5.4	389.3	2.03	0.14	320	15.6	21.6	21.0	175.0
LC-Cys_3	5.3	303.0	1.94	0.15	*	18.6	24.0	19.6	175.0
LC-Cys_5	5.3	128.0	2.39	0.18	360	15.6	19.6	18.6	150.0
LC-Cys_8	5.5	294.0	2.14	0.17	340	13.6	15.8	17.2	150.0
LC-Cys_9	5.3	486.0	2.23	0.16	410	16.6	20.2	17.4	175.0
LC-Cys_10	5.7	290.0	2.62	0.22	470	24.6	28.6	24.0	300.0
LC-Sal_1+2	5.2	659.5	2.08	0.15	370	9.5	19.0	19.0	162.5
LC-Sal_3+4	5.4	525.5	2.32	0.17	360	14.1	19.2	19.6	150.0
LC-Sal_5+6	5.4	438.5	2.11	0.17	350	15.1	20.4	20.4	225.0
LC-Sal_7+8	5.4	513.5	2.27	0.17	330	14.6	20.8	20.6	425.0
LC-Sal_9+10	5.3	*	2.01	0.14	430	9.5	15.6	17.2	250.0
MC-Cis(S)_1+2	4.5	281.5	2.34	0.17	1060	26.1	34.0	26.0	175.0
MC-Cis(S)_3+4	4.7	173.0	3.24	0.19	830	34.1	45.2	30.0	337.5
MC-Cis(S)_5+6	5.2	553.5	1.75	0.12	570	24.1	37.0	34.0	325.0
MC-Cis(S)_7+8	4.9	270.0	2.50	0.17	500	28.6	43.6	38.0	325.0
MC-Cis(S)_9+10	5.1	180.5	2.18	0.13	520	33.6	40.2	32.0	225.0
MC-Cis(SC)_1+2	5.5	292.4	2.28	0.15	650	26.1	41.4	34.0	475.0
MC-Cis(SC)_3+4	5.4	332.8	2.21	0.17	570	27.6	42.6	32.0	400.0
MC-Cis(SC)_5+6	5.9	161.5	1.91	0.12	660	23.6	33.6	30.0	275.0
MC-Cis(SC)_7+8	5.3	289.5	2.55	0.19	670	31.1	44.2	34.0	375.0
MC-Cis(SC)_9+10	5.0	385.0	3.27	0.20	620	27.1	38.6	30.0	350.0

*a- DOC= Carbono orgánico disuelto / *Datos no disponibles*

Tabla 4.2 (continuación).- Características generales, concentración total, biodisponible y especiación de Zn en suelo rizosférico con distintos niveles de contaminación (NC/LC/MC/FC) tras el crecimiento de <u>Cistus ladanifer</u> (Cis(S): población procedente de serpentinitas / Cis(SC): población procedente de esquistos), <u>Cytisus scoparius</u> (Cyt) y <u>Salix viminalis</u> (Sal).

Muestra	pH	DOC[a]	%C	%N	Zn_{Total}	Zn_{EDTA}	Zn_{CAM}	Zn_{OX}	Zn_{OR-SUL}
		mg kg^{-1}			mg kg^{-1}				
MC-Cys_2	5.3	245.0	2.56	0.17	550	24.6	35.6	30.0	275.0
MC-Cys_3	5.1	344.0	2.30	0.16	640	32.1	43.4	30.0	400.0
MC-Cys_5	5.4	489.5	2.30	0.18	1000	33.6	48.4	32.0	325.0
MC-Cys_6	5.4	307.2	2.62	0.17	800	40.4	45.4	30.0	.
MC-Cys_10	5.5	104.0	2.59	0.15	720	41.7	43.8	42.0	375.0
MC-Sal_1+2	5.6	498.0	2.64	0.17	910	24.1	31.6	30.0	275.0
MC-Sal_3+4	5.6	376.5	2.19	0.14	580	24.1	34.8	36.0	375.0
MC-Sal_5+6	5.7	385.5	2.20	0.16	930	26.1	38.4	38.0	350.0
MC-Sal_7+8	5.5	310.0	1.92	0.14	690	26.1	38.2	36.0	300.0
MC-Sal_9+10	5.4	418.5	2.16	0.16	840	26.1	40.0	36.0	350.0
FC-Cis(S)_1+2	4.8	224.0	2.69	0.18	1290	*	*	*	*
FC-Cis(S)_3+4	4.8	224.0	2.93	0.18	2070	*	89.2	40.0	950.0
FC-Cis(S)_5+6	4.9	277.5	*	*	1470	29.4	48.0	44.0	850.0
FC-Cis(S)_7+8	5.0	289.5	2.11	0.15	1140	27.1	42.0	32.0	800.0
FC-Cis(S)_9+10	5.0	134.0	2.14	0.16	1020	*	53.0	44.0	1050.0
FC-Cis(SC)_1+2	4.2	302.5	2.49	0.15	2110	*	66.0	46.0	550.0
FC-Cis(SC)_3+4	5.1	414.0	*	*	1640	45.7	60.0	48.0	750.0
FC-Cis(SC)_5+6	4.9	442.5	2.47	0.17	1420	42.2	56.0	44.0	1300.0
FC-Cis(SC)_7+8	5.1	229.5	2.22	0.15	1600	38.6	81.2	48.0	1875.0
FC-Cis(SC)_9+10	4.9	279.5	2.93	0.17	2310	*	52.0	36.0	250.0
FC-Cys_2	4.7	155.5	2.52	0.17	1290	50.2	58.0	46.0	850.0
FC-Cys_3	4.9	179.0	2.23	0.15	1190	40.7	51.0	42.0	850.0
FC-Cys_4	4.6	226.0	3.13	0.19	1050	*	58.0	32.0	900.0
FC-Cys_5	4.8	225.5	2.79	0.20	1090	90.3	80.0	56.0	1000.0
FC-Cys_6	5.4	*	3.07	0.19	1190	135.5	72.0	48.0	750.0
FC-Cys_7	4.6	239.0	2.74	0.17	1440	75.3	74.0	48.0	850.0
FC-Cys_8	5.7	538.5	3.56	0.23	1370	80.3	60.0	48.0	*
FC-Cys_9	5.4	185.5	2.45	0.16	1710	42.7	57.8	44.0	2150.0
FC-Cys_10	4.8	142.5	2.65	0.21	3050	*	72.4	42.0	675.0
FC-Sal_1+2	5.2	214.0	2.33	0.16	2620	46.7	53.2	50.0	1000.0
FC-Sal_3+4	5.2	249.5	2.06	0.12	1370	50.2	59.4	55.0	800.0
FC-Sal_5+6	5.5	290.0	2.64	0.17	1570	32.1	49.0	46.0	1650.0
FC-Sal_7+8	5.1	204.0	2.21	0.16	1280	50.2	62.4	52.0	1275.0
FC-Sal_9+10	4.9	312.5	2.33	0.17	1140	50.2	68.0	58.0	800.0

*a- DOC= Carbono orgánico disuelto / *Datos no disponibles*

Tabla 4.3.- Datos de biomasa (peso seco de hojas (PSH), de tallos (PST) y de raíces (PSR)) y de concentración de Zn en <u>Cistus ladanifer</u> (Cis(S): población procedente de serpentinitas / Cis(SC): población procedente de esquistos), <u>Cytisus scoparius</u> (Cyt) y <u>Salix viminalis</u> (Sal) creciendo sobre los sustratos con diferentes niveles de contaminación (NC/LC/MC/FC).

Muestra	PSH	PST	PSR	Zn_{Hoja}	Zn_{Tallo}	Zn_{Raiz}
	g			mg kg^{-1}		
NC-Cis(S)_1+2	4.36	1.39	1.42	90	40	30
NC-Cis(S)_3+4	3.07	0.85	1.23	72	44	25
NC-Cis(S)_5+6	4.26	1.50	1.97	67	38	30
NC-Cis(S)_7+8	1.80	0.51	0.69	87	43	32
NC-Cis(S)_9+10	2.76	0.27	1.30	*	48	26
NC-Cis(SC)_1+2	8.93	2.87	2.06	65	18	25
NC-Cis(SC)_3+4	4.86	1.79	1.65	74	27	15
NC-Cis(SC)_5+6	6.40	2.02	2.12	58	25	15
NC-Cis(SC)_7+8	5.58	2.01	1.71	60	19	17
NC-Cis(SC)_9+10	4.90	1.84	1.75	70	26	24
NC-Cyt_1	1.06	a	0.60	51	a	37
NC-Cyt_2	2.97	a	1.15	29	a	34
NC-Cyt_3	0.78	a	0.33	32	a	26
NC-Cyt_5	4.08	a	2.75	45	a	45
NC-Cyt_6	5.12	a	2.56	30	a	38
NC-Cyt_7	5.35	a	2.58	57	a	37
NC-Sal_1+2	6.29	7.03	12.12	70	67	44
NC-Sal_3+4	3.79	6.85	11.74	92	80	37
NC-Sal_5+6	3.55	6.26	12.28	78	74	39
NC-Sal_7+8	3.40	5.23	9.13	96	65	38
NC-Sal_9+10	3.15	3.36	2.58	150	92	50
LC-Cis(S)_1+2	0.31	0.04	0.13	400	243	90
LC-Cis(S)_3+4	0.74	0.16	0.35	450	350	110
LC-Cis(S)_5+6	0.54	0.09	0.24	510	394	150
LC-Cis(S)_7+8	0.65	0.14	0.28	440	340	110
LC-Cis(S)_9+10	0.64	0.23	0.57	*	200	80
LC-Cis(SC)_1+2	2.80	0.65	1.38	360	220	80
LC-Cis(SC)_3+4	1.15	0.26	0.44	390	270	100
LC-Cis(SC)_5+6	2.52	0.59	0.76	340	180	130
LC-Cis(SC)_7+8	0.60	0.14	0.31	510	500	130
LC-Cis(SC)_9+10	1.70	0.39	0.73	420	290	130
LC-Cyt_2	1.34	a	0.61	53	a	130
LC-Cyt_3	2.70	a	1.11	100	a	160
LC-Cyt_5	2.31	a	1.53	80	a	220
LC-Cyt_8	1.33	a	0.97	64	a	190
LC-Cyt_9	2.61	a	1.54	48	a	80
LC-Cyt_10	1.65	a	0.53	70	a	180
LC-Sal_1+2	1.66	2.52	3.90	770	320	110
LC-Sal_3+4	1.75	3.07	5.30	810	400	*
LC-Sal_5+6	1.11	1.63	2.49	980	400	130
LC-Sal_7+8	2.16	3.62	5.22	690	390	120
LC-Sal_9+10	2.28	3.81	6.52	630	230	120
MC-Cis(S)_1+2	0.86	0.19	0.33	510	400	210
MC-Cis(S)_3+4	0.83	0.24	0.55	500	360	140
MC-Cis(S)_5+6	1.18	0.24	0.45	510	450	140
MC-Cis(S)_7+8	0.69	0.15	0.32	520	470	210
MC-Cis(S)_9+10	0.81	0.14	0.34	*	440	160
MC-Cis(SC)_1+2	3.42	1.04	1.19	460	210	150
MC-Cis(SC)_3+4	2.06	0.67	0.75	530	400	*
MC-Cis(SC)_5+6	2.92	1.46	1.03	490	280	150
MC-Cis(SC)_7+8	2.43	0.73	0.97	470	390	140
MC-Cis(SC)_9+10	3.40	1.20	1.32	480	260	160

a - En Cyt se analizó como hojas toda la parte verde de la planta (Hojas+Tallos)
**Datos no disponibles*

Tabla 4.3 (continuación).- Datos de biomasa (peso seco de hojas (PSH), de tallos (PST) y de raíces (PSR)) y de concentración de Zn en <u>Cistus ladanifer</u> (Cis(S): población procedente de serpentinitas / Cis(SC): población procedente de esquistos), <u>Cytisus scoparius</u> (Cyt) y <u>Salix viminalis</u> (Sal) creciendo sobre los sustratos con diferentes niveles de contaminación (NC/LC/MC/FC).

Muestra	PSH	PST	PSR	Zn_{Hoja}	Zn_{Tallo}	Zn_{Raiz}
	g			mg kg^{-1}		
MC-Cyt_2	1.95	a	1.52	80	a	160
MC-Cyt_3	2.49	a	0.81	60	a	150
MC-Cyt_5	2.76	a	1.66	80	a	190
MC-Cyt_6	4.16	a	2.07	90	a	290
MC-Cyt_10	2.36	a	1.56	71	a	260
MC-Sal_1+2	2.26	4.19	6.36	1020	250	160
MC-Sal_3+4	1.84	4.72	5.47	900	480	190
MC-Sal_5+6	1.70	2.99	3.94	1700	610	240
MC-Sal_7+8	1.49	2.06	2.79	1900	560	290
MC-Sal_9+10	1.53	2.05	3.52	1600	520	270
FC-Cis(S)_1+2	1.10	0.01	0.11	438	339	186
FC-Cis(S)_3+4	0.18	0.02	0.11	450	349	167
FC-Cis(S)_5+6	0.08	0.01	0.12	588	500	200
FC-Cis(S)_7+8	0.34	0.04	0.16	540	513	190
FC-Cis(S)_9+10	0.07	0.01	0.10	507	450	175
FC-Cis(SC)_1+2	0.21	0.03	0.17	490	353	250
FC-Cis(SC)_3+4	0.61	0.10	0.36	510	400	240
FC-Cis(SC)_5+6	0.81	0.16	0.36	500	380	230
FC-Cis(SC)_7+8	0.39	0.04	0.21	520	476	270
FC-Cis(SC)_9+10	0.62	0.08	0.31	*	342	170
FC-Cyt_2	1.15	a	1.11	75	a	180
FC-Cyt_3	2.69	a	1.31	65	a	330
FC-Cyt_4	0.63	a	0.39	51	a	390
FC-Cyt_5	0.79	a	0.51	110	a	360
FC-Cyt_6	0.84	a	0.89	110	a	160
FC-Cyt_7	1.74	a	0.96	130	a	280
FC-Cyt_8	2.48	a	1.56	47	a	120
FC-Cyt_9	1.54	a	1.57	39	a	180
FC-Cyt_10	0.40	a	0.11	88	a	450
FC-Sal_1+2	1.09	2	1.31	1200	510	400
FC-Sal_3+4	1.40	2.18	2.79	1040	460	360
FC-Sal_5+6	1.62	2.93	2.40	860	630	280
FC-Sal_7+8	0.69	0.98	0.80	1080	630	380
FC-Sal_9+10	0.78	1.11	1.13	1500	640	330

a - En Cyt se analizó como hojas toda la parte verde de la planta (Hojas+Tallos)
**Datos no disponibles*

ANEXO 5

ANÁLISIS DE SUELOS Y PLANTAS DEL ENSAYO DE FITOEXTRACCIÓN INDUCIDA DE Cr (CAPÍTULO 6)

Tabla 5.1.- Concentración de Cr total, biodisponible (extraíble en EDTA) y soluble en los suelos con distintos niveles de contaminación (CONT/LC/MC) tras el crecimiento de las plantas (Cis=C. ladanifer / Sal=S. viminalis / Bra=B. juncea) y la aplicación de los distintos tratamientos con agentes quelantes (0Q/AP/EDDS). (n.d.= No detectado: Cr_{EDTA} < 5 / $Cr_{SOLUBLE}$ <1).

Muestra	Cr_{TOTAL}	Cr_{EDTA}	$Cr_{SOLUBLE}$ ($\mu g\ l^{-1}$)							
	mg kg^{-1}		Día 28	Día 56	Día 84	Día 112	Tras 1ª Dosis	Tras 2ª Dosis	Tras 3ª Dosis	Tras 4ª Dosis
Sal-CONT-0Q_1	22	n.d.	*	*	*	*	*	*	*	*
Sal-CONT-0Q_2	27	n.d.	*	*	*	*	*	*	*	*
Sal-CONT-0Q_7	*	*	*	*	*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	*
Sal-CONT-0Q_8	23	n.d.	*	*	*	n.d.	n.d.	19.2	n.d.	*
Sal-CONT-Ap_1	23	n.d.	*	*	*	*	*	*	*	*
Sal-CONT-Ap_6	21	n.d.	*	*	*	n.d.	n.d.	0.4	0.4	*
Sal-CONT-Ap_8	23	n.d.	*	*	*	*	n.d.	5.5	n.d.	*
Sal-CONT-EDDS_1	22	n.d.	*	*	*	*	*	*	*	*
Sal-CONT-EDDS_6	*	*	*	*	*	n.d.	*	*	75.2	*
Sal-CONT-EDDS_7	22	n.d.	*	*	*	n.d.	5.7	23.3	23.5	70.0
Sal-CONT-EDDS_8	22	n.d.	*	*	*	n.d.	29.0	56.0	82.7	100.0
Bra-CONT-0Q-6	19	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Bra-CONT-0Q-7	22	n.d.	n.d.	*	*	n.d.	n.d.	*	n.d.	n.d.
Bra-CONT-0Q-8	19	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.6
Bra-CONT-AP-6	21	n.d.	1.2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.0	0.6
Bra-CONT-AP-7	22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.2
Bra-CONT-AP-8	21	n.d.	n.d.	n.d.	.	n.d.	n.d.	n.d.	0.4	0.3
Bra-CONT-EDDS-5	25	n.d.	*	n.d.	n.d.	n.d.	20.1	24.8	70.4	39.6
Bra-CONT-EDDS-6	25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	12.1	24.7	55.8	41.5
Bra-CONT-EDDS-8	22	n.d.	*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	26.7	92.4	59.1
Cis-CONT-0Q-2	22	n.d.	*	*	*	*	*	*	*	*
Cis-CONT-0Q-7	21	n.d.	n.d.	n.d.	*	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cis-CONT-0Q-8	25	n.d.	n.d.	n.d.	*	n.d.	n.d.	n.d.	0.7	n.d.
Cis-CONT-AP-7	23	n.d.	n.d.	n.d.	*	n.d.	n.d.	n.d.	0.2	n.d.
Cis-CONT-AP-6	24	n.d.	n.d.	47.2	*	n.d.	n.d.	n.d.	0.3	n.d.
Cis-CONT-EDDS-6	28	n.d.	n.d.	n.d.	*	n.d.	9.0	12.4	24.6	23.9
Cis-CONT-EDDS-8	30	n.d.	n.d.	n.d.	*	n.d.	1.7	7.1	28.2	35.7
Sal-LC-0Q_1	680	16	*	*	*	*	*	*	*	*
Sal-LC-0Q_2	270	15	*	*	*	2.1	2.3	7.3	2.7	17.1
Sal-LC-0Q_6	110	13	*	*	*	1.9	3.3	2.7	2.4	*
Sal-LC-Ap_4	200	18	*	*	*	1.7	n.d.	8.8	10.2	50.0
Sal-LC-Ap_8	*	*	*	*	*	1.9	3.3	18.6	26.8	*
Sal-LC-EDDS_5	240	56	*	*	*	*	*	*	*	*

Tabla 5.1 (continuación).- Concentración de Cr total, biodisponible (extraíble en EDTA) y soluble en los suelos con distintos niveles de contaminación (CONT/LC/MC) tras el crecimiento de las plantas (Cis=C. ladanifer / Sal=S. viminalis / Bra=B. juncea) y la aplicación de los distintos tratamientos con agentes quelantes (0Q/AP/EDDS). (n.d.= No detectado: Cr_{EDTA} < 5 / $Cr_{SOLUBLE}$ <1).

Muestra	Cr_{TOTAL}	Cr_{EDTA}	$Cr_{SOLUBLE}$ (µg l^{-1})							
	mg kg^{-1}		Día 28	Día 56	Día 84	Día 112	Tras 1ª Dosis	Tras 2ª Dosis	Tras 3ª Dosis	Tras 4ª Dosis
Sal-LC-EDDS_6	130	55	*	*	*	1.9	482.1	*	3457.0	5000.0
Sal-LC-EDDS_7	110	29	*	*	*	1.0	256.9	64.1	1762.0	2700.0
Bra-LC-0Q-3	230	6	*	*	*	*	*	*	*	*
Bra-LC-0Q-6	200	14	3.0	1.9	2.2	3.1	3.0	2.7	3.9	5.2
Bra-LC-0Q-7	279	9	0.8	1.0	1.0	2.8	0.4	0.9	1.9	1.7
Bra-LC-AP-6	190	12	4.6	0.7	1.0	1.7	1.2	7.5	2.5	*
Bra-LC-AP-7	410	13	1.0	1.0	*	3.8	n.d.	*	5.4	5.4
Bra-LC-AP-8	161	13	1.5	2.0	1.9	2.8	n.d.	5.7	4.2	4.5
Bra-LC-EDDS-2	280	46	2.0	n.d.	1.2	1.8	278.2	805.2	1100.0	1800.0
Bra-LC-EDDS-7	160	47	0.7	1.1	2.6	5.0	*	*	1400.0	1800.0
Bra-LC-EDDS-8	158	41	1.5	1.2	*	2.6	*	1284.0	1000.0	1300.0
Cis-LC-0Q	234	19	*	*	*	*	*	*	*	*
Cis-LC-Ap-6	167	23	n.d.	0.8	*	2.3	n.d.	*	4.9	5.2
Cis-LC-EDDS-2	190	79	2.0	3.3	*	3.6	507.0	1265.0	2000.0	3100.0
Cis-LC-EDDS-8	336	50	0.8	2.6	*	4.7	1354.0	1522.0	2900.0	2200.0
Bra-MC-0Q-4	590	21	*	*	*	*	*	*	*	*
Bra-MC-0Q-6	280	23	1.0	*	*	3.9	0.6	6.4	4.2	4.1
Bra-MC-0Q-8	333	18	2.2	1.2	*	3.2	n.d.	2.6	5.2	2.6
Bra-MC-AP-6	250	18	1.8	1.9	*	2.6	1.5	4.2	4.6	4.2
Bra-MC-AP-7	230	17	1.8	*	*	4.6	3.3	10.2	11.3	4.7
Bra-MC-AP-8	326	21	2.1	2.7	*	3.4	3.4	6.0	6.9	5.5
Bra-MC-AP-9	*	*	2.6	2.4	*	3.5	7.4	7.8	7.1	*
Bra-MC-EDDS-5	230	97	1.6	*	*	*	610.8	889.8	3300.0	3900.0
Bra-MC-EDDS-6	670	56	1.8	*	*	3.5	1159.0	1387.0	2200.0	2600.0
Bra-MC-EDDS-8	378	71	3.6	3.2	*	6.8	1894.0	1859.0	6200.0	4800.0
Cis-MC-0Q-8	281	22	1.2	2.0	*	3.7	2.1	1.6	2.9	3.0
Cis-MC-0Q-7	261	32	0.8	2.5	*	5.8	n.d.	1.4	3.6	4.5
Cis-MC-Ap-7	260	23	*	2.1	*	1.9	n.d.	118.3	3.9	2.3
Cis-MC-Ap-6	300	25	1.6	2.3	*	3.5	n.d.	3.6	5.6	3.5
Cis-MC-Ap-8	361	26	2.9	4.8	*	9.4	13.6	21.2	36.9	11.3
Cis-MC-EDDS-8	340	75	2.4	2.5	*	2.8	154.8	1067.0	2200.0	2700.0
Cis-MC-EDDS-6	360	75	0.6	2.2	*	3.5	130.0	835.9	2300.0	2800.0
Cis-MC-EDDS-7	299	71	1.2	2.0	*	5.5	180.0	1258.0	2400.0	3100.0

**Datos no disponibles*

Tabla 5.2.- Datos de biomasa (peso seco de hojas (PSH), de tallos (PST) y de raíces (PSR)/ longitud del tallo (LT)) y de concentración de Cr en las plantas (Cis=C. ladanifer / Sal=S. viminalis / Bra=B. juncea) desarrolladas sobre suelos contaminados con distintos niveles de Cr (CONT/LC/MC) tras la aplicación de los distintos tratamientos con agentes quelantes (0Q/AP/EDDS).

Muestra	PSH	PST	PSR	LT	Cr_{Hojas}	Cr_{Tallo}	$Cr_{Raíz}$
		g		cm		mg kg^{-1}	
Sal-CONT-0Q_1	2.19	2.47	0.95	82.0	8.2	18.5	58.0
Sal-CONT-0Q_2	2.16	2.17	0.84	76.0	9.2	21.3	57.6
Sal-CONT-0Q_3	2.25	2.28	0.82	75.0	7.7	22.7	101.4
Sal-CONT-0Q_7	2.35	2.96	1.25	74.0	8.0	16.1	51.0
Sal-CONT-0Q_8	1.62	1.70	0.84	62.0	13.0	28.3	*
Sal-CONT-Ap_1	1.75	1.57	0.58	47.0	12.0	33.7	79.7
Sal-CONT-Ap_3	2.44	3.02	1.34	73.0	9.0	18.8	177.1
Sal-CONT-Ap_4	2.03	2.39	0.84	80.5	9.7	17.8	141.2
Sal-CONT-Ap_5	1.84	1.97	0.81	68.0	8.0	16.4	107.9
Sal-CONT-Ap_6	1.29	1.21	0.71	55.0	14.9	34.9	133.8
Sal-CONT-Ap_8	0.74	0.89	0.42	58.0	15.6	42.3	*
Sal-CONT-EDDS_1	1.56	1.25	0.51	60.0	8.7	49.2	171.9
Sal-CONT-EDDS_2	1.88	1.86	0.78	73.0	9.9	19.1	116.6
Sal-CONT-EDDS_3	2.11	2.90	0.86	80.0	11.3	11.7	162.3
Sal-CONT-EDDS_4	1.65	1.89	1.05	64.0	9.9	14.6	111.7
Sal-CONT-EDDS_5	2.15	2.23	0.84	78.0	8.5	21.0	69.8
Sal-CONT-EDDS_6	1.40	1.72	0.68	73.0	5.9	24.2	145.9
Sal-CONT-EDDS_7	0.78	0.58	0.46	39.0	21.5	72.9	*
Sal-CONT-EDDS_8	0.67	0.61	0.46	47.0	20.3	66.0	*
Bra-CONT-0Q-6	0.14	0.30	0.07	44.0	18.0	292.8	13.9
Bra-CONT-0Q-7	0.72	0.95	0.05	66.0	9.4	72.7	*
Bra-CONT-0Q-8	0.39	1.11	0.07	53.0	26.2	40.3	*
Bra-CONT-AP-6	0.62	1.30	0.11	60.0	38.0	26.6	*
Bra-CONT-AP-7	0.63	0.91	0.63	58.0	15.6	30.6	*
Bra-CONT-AP-8	0.46	0.28	0.05	*	31.8	116.2	*
Bra-CONT-EDDS-5	0.78	0.66	0.04	45.0	13.9	41.6	*
Bra-CONT-EDDS-6	0.74	1.85	0.34	73.0	10.2	16.2	*
Bra-CONT-EDDS-7	0.33	1.27	0.09	62.0	11.6	30.4	6.3
Bra-CONT-EDDS-8	0.37	1.03	0.08	59.0	6.0	32.6	*
Cis-CONT-0Q	1.35	0.59	0.27	10.8	19.4	37.2	117.3
Cis-CONT-Ap	1.69	0.94	0.83	15.5	40.4	8.9	128.8
Cis-CONT-EDDS	1.02	0.36	0.08	10.1	102.7	7.4	16.1
Sal-LC-0Q_1	1.24	2.11	1.20	62.0	18.8	16.9	93.7
Sal-LC-0Q_2	1.22	1.58	0.62	56.0	19.0	15.5	114.5
Sal-LC-0Q_3	1.78	2.40	1.23	58.0	15.4	18.8	80.8
Sal-LC-0Q_4	1.32	1.47	0.48	64.0	14.6	21.8	197.2
Sal-LC-0Q_6	0.93	1.14	0.50	60.0	17.6	39.8	305.0
Sal-LC-0Q_7	1.20	2.00	0.84	71.5	17.8	14.7	237.6
Sal-LC-Ap_2	1.14	1.75	1.11	41.5	19.4	23.9	*
Sal-LC-Ap_3	1.60	2.04	0.81	60.0	10.9	15.9	228.6
Sal-LC-Ap_4	1.04	1.17	0.62	43.0	28.8	37.9	174.1
Sal-LC-Ap_5	1.45	1.44	0.59	63.0	14.7	30.1	198.6
Sal-LC-Ap_7	0.93	1.11	0.49	52.0	19.5	38.2	178.6
Sal-LC-Ap_8	0.98	1.02	0.46	37.0	21.4	22.4	329.2
Sal-LC-EDDS_1	0.66	0.81	0.29	53.0	38.8	52.7	534.3
Sal-LC-EDDS_2	1.02	1.24	0.49	52.0	39.7	20.9	187.2
Sal-LC-EDDS_3	1.14	1.26	0.47	55.0	25.9	26.9	251.4
Sal-LC-EDDS_5	0.42	0.66	0.35	34.0	56.4	35.3	141.0
Sal-LC-EDDS_6	1.15	1.38	0.46	52.0	44.7	21.6	215.2
Sal-LC-EDDS_7	1.31	2.04	0.48	56.0	52.4	19.2	1277.2

**Datos no disponibles*

Tabla 5.2 (continuación).- Datos de biomasa (peso seco de hojas (PSH), de tallos (PST) y de raíces (PSR)/ longitud del tallo (LT)) y de concentración de Cr en las plantas (Cis=C. ladanifer / Sal=S. viminalis / Bra=B. juncea) desarrolladas sobre suelos contaminados con distintos niveles de Cr (CONT/LC/MC) tras la aplicación de los distintos tratamientos con agentes quelantes (0Q/AP/EDDS).

Muestra	PSH	PST	PSR	LT	Cr_{Hojas}	Cr_{Tallo}	$Cr_{Raíz}$
		g		cm		mg kg^{-1}	
Bra-LC-0Q-3	0.75	0.96	0.06	60.0	6.1	27.6	*
Bra-LC-0Q-6	0.43	0.53	0.07	34.0	7.7	66.4	13.3
Bra-LC-0Q-7	1.11	0.77	0.07	50.0	5.7	31.3	*
Bra-LC-AP-5	0.25	0.39	0.06	34.0	6.1	62.4	*
Bra-LC-AP-6	0.36	0.55	0.05	32.0	7.4	101.9	*
Bra-LC-AP-7	1.59	1.27	0.19	38.0	22.5	24.21	10.6
Bra-LC-AP-8	0.27	0.31	0.03	30.0	6.3	185.4	*
Bra-LC-EDDS-2	0.41	0.46	0.02	34.0	18.2	232.1	*
Bra-LC-EDDS-3	0.48	0.36	0.03	34.0	14.6	100.9	*
Bra-LC-EDDS-4	1.53	1.26	0.25	36.0	8.0	28.6	7.5
Bra-LC-EDDS-5	0.35	0.37	0.05	29.0	18.1	157.0	*
Bra-LC-EDDS-7	0.20	0.24	0.01	27.0	22.4	315.4	*
Bra-LC-EDDS-8	0.13	0.76	0.13	29.0	7.8	141.0	19.4
Cis-LC-0Q	0.09	0.05	0.02	8.4	24.8	30.1	40.0
Cis-LC-Ap	0.15	0.06	0.01	6.6	9.9	14.5	172.9
Cis-LC-EDDS	0.28	0.10	0.04	6.8	60.1	294.1	259.9
Bra-MC-0Q-4	0.84	0.61	0.10	38.0	12.4	43.6	9.9
Bra-MC-0Q-6	0.26	0.20	0.02	33.0	7.0	154.8	*
Bra-MC-0Q-8	0.71	0.60	0.07	32.0	5.3	41.3	*
Bra-MC-AP-6	0.11	0.10	0.02	20.0	6.1	536.0	*
Bra-MC-AP-7	1.10	0.95	0.09	40.0	4.0	23.9	25.9
Bra-MC-AP-8	1.20	0.36	0.07	28.0	5.2	126.7	20.5
Bra-MC-AP-9	0.65	0.59	0.06	42.0	5.5	38.6	15.2
Bra-MC-EDDS-1	1.96	1.27	0.09	43.0	10.7	31.8	17.0
Bra-MC-EDDS-5	0.17	0.28	0.01	35.0	16.1	230.0	*
Bra-MC-EDDS-6	0.11	0.13	0.03	22.0	1054.1	979.7	24.6
Bra-MC-EDDS-7	1.19	0.67	*	56.0	15.6	79.3	*
Bra-MC-EDDS-8	0.88	0.45	0.09	34.0	32.0	413.2	17.8
Cis-MC-0Q	0.09	0.03	0.08	4.4	60.0	108.9	357.1
Cis-MC-Ap	0.08	0.01	0.01	2.7	49.3	117.6	265.3
Cis-MC-EDDS	0.04	0.02	0.01	2.8	123.3	222.8	372.1

**Datos no disponibles*