



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Evaluación del Potencial Fitorremediativo para el Control de la Exposición al Plomo y Otros Metales y Restauración Ambiental en Haina, República Dominicana

Dña. Agripina Ramírez Sánchez
2017



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Evaluación del Potencial Fitorremediativo para el Control
de la Exposición al Plomo y Otros Metales y
Restauración Ambiental en Haina, República
Dominicana**

Tesis Doctoral presentada por:

Dña. AGRIPINA RAMÍREZ SÁNCHEZ

para optar al grado de doctora por la Universidad de Murcia

Directores:

Olaf Franziskus Werner (Universidad de Murcia)

Gregorio García Fernández (Universidad Politécnica de Cartagena)

Bernarda A. Castillo de la Cruz (Instituto de Innovación en
Biotecnología e Industria, Santo Domingo)

Tutora: Rosa María Ros Espín (Universidad de Murcia)

Murcia, 2017

*A Omar, Beverlyn y Evelyn
mis compañeros de viaje, mi
esposo y mis hijas*

Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: LA VOLUNTAD.

Albert Einstein

El único lugar donde encontrarás éxito antes que trabajo es en el diccionario.

Hector Tassinari

Para tener éxito, tus deseos de triunfar deberían ser más grandes que tu miedo de fracasar.

Bill Cosby

Un triunfador es aquel que se levanta y busca las circunstancias que desea y si no las encuentra las fabrica.

George Bernard Shaw

Agradecimientos

Muchas han sido las vivencias y las personas que he conocido durante los seis años que ha durado esta tesis doctoral. Muchas de esas personas han contribuido de una u otra forma a que esta tesis llegara a su fin y de que no me quedara en uno de los numerosos obstáculos del angosto y largo camino. Todos ellos merecen mis más sinceros agradecimientos.

En primer lugar, me gustaría dar las gracias a mis directores y a mi tutora.

A la Dra. Bernarda Castillo por darme la oportunidad de iniciarme en el país como investigadora, por proponer la idea de trabajar en este proyecto, por sus enseñanzas, la confianza depositada en mí y su ayuda; ha sido mi soporte en esta difícil tarea durante mi periodo de formación profesional y que a pesar de las dificultades que ha afrontado en lo personal siempre ha estado pendiente de que yo pudiera cumplir la meta.

A mi director, Dr. Olaf Werner por sus enseñanzas en el laboratorio, por ayudarme cuando me encontraba con las dificultades, sobre todo por su gran paciencia antes mis múltiples insistencias, así como también por tener en cuenta cada uno de los detalles en el análisis estadístico y mostrar siempre ese buen humor al expresarse en cada una de sus aportaciones y por los numerosos aportes intelectuales que ha realizado, por la confianza depositada en mí y su ayuda imprescindible en la interpretación de los resultados de esta tesis doctoral.

A mi director, Dr. Gregorio García, por ser parte importante de nuestra investigación, quien ha conducido las técnicas usadas en este proyecto de investigación, siempre mostrando paciencia, dedicación, entrega en sus enseñanzas y por todo el tiempo que ha dedicado a este trabajo, gracias mil.

A mi tutora, Dra. Rosa María Ros, por darme la oportunidad de realizar el doctorado en su equipo, por transmitirme su interés en la investigación, por su paciencia,

por estar pendiente del mínimo detalle, por sus grandes aportes en la botánica de las plantas utilizadas, por todo el tiempo dedicado a este trabajo, por sus enseñanzas, su confianza y ayuda incondicional, sin ella nada de esto hubiera sido posible.

Gracias al Estado Dominicano por financiar mi formación como docente e investigadora, toda mi producción científica y una importante parte de esta tesis doctoral a través de la beca internacional del Ministerio de Educación Superior, Ciencia y Tecnología de la República Dominicana, en la persona de la Lcda. Ligia Amada Melo, por darme la oportunidad de formarme como profesional y creer en los jóvenes dominicanos, al beneficiarme con la beca de maestría y luego ofrecerme un doctorado, para desarrollarlo con las capacidades de las que disponemos actualmente en el país y que ha servido de base para otros doctorandos, gracias infinitas.

Al Ministerio de Educación Superior, Ciencia y Tecnología por todo el apoyo brindado en el desarrollo de esta tesis doctoral, y de manera especial a la ministra Alejandrina Germán, la secretaria ejecutiva Dania Marcano y la encargada de becas internacionales Rosanna Sánchez.

Gracias al Fondo Nacional de Innovación y Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDOCYT) de la República Dominicana por la financiación de esta investigación en la convocatoria 2010, en la persona del viceministro Dr. Plácido Gómez, el director de investigación Dr. Carlos Rodríguez, el contador Domingo Mercedes y la contadora Johanna María Alix.

Gracias a mi compañero, amigo y hermano, Dr. Mahmoud Magdy, por ser quien me motivó a seguir adelante en cada una de mis dificultades y ser parte de este largo camino, por orientarme y ayudarme. Gracias por su gran paciencia y colaboración, por ser el enlace conector en la realización de esta tesis, gracias infinitas.

También un agradecimiento muy especial a mis amigos y compañeros de laboratorio de la Universidad de Murcia, Dr. Sergio Pisa Martín, Samah Mohamed Rizk y Carmen Inmaculada Aledo López por todos los momentos compartidos durante estos años de trabajo.

Al profesor y asesor del Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria, Ing. Héctor Rosario, por el asesoramiento y contribución a la presente tesis doctoral.

Al director del Centro de Biotecnología Vegetal, Ing. Julio Mejía, por su contribución en cuestiones relativas a las especies de interés agronómico, así como las facilidades en los materiales *in vitro* usados en el desarrollo de la presente tesis doctoral.

Al profesor de la Universidad de Murcia, Dr. Diego Rivera Núñez, por el asesoramiento sobre cuestiones nomenclaturales de los taxones de interés agronómico tratados en la presente tesis doctoral.

Al coordinador del Programa de Doctorado en Biodiversidad y Gestión Ambiental de la Universidad de Murcia, Dr. José Galián Albaladejo, por su constante ayuda y asesoramiento en las cuestiones relacionadas con los estudios de doctorado.

Al doctorando de la Universidad de Murcia, Saúl Manzano, por su ayuda al proporcionarnos algunas fuentes bibliográficas y en la maquetación de la presente memoria.

Al director del Servicio Geológico Nacional, Dr. Santiago J. Muñoz T., al Ing. Jesús Rodríguez Reyes, a la Ing. Yenny Rodríguez, por su constante ayuda y caracterización geográfica e hidrológica de la zona de Haina.

Al director del Jardín Botánico Nacional de Santo Domingo “Dr. Rafael Ma. Moscoso”, Lcdo. Ricardo Gracia, así como al Ing. Wilkin Encarnación y al Lcdo. Teodoro Clase, por su colaboración en la caracterización de la vegetación.

Al profesor del Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Oaxaca, México, Dr. Celerino Robles Pérez, por el asesoramiento y aportación de fuentes bibliográficas sobre cuestiones de legislación ambiental tratadas en la presente tesis doctoral.

A los profesores de la Universidad Autónoma de Santo Domingo, Ings. Ángel Pimentel y Rafael Matos, por el asesoramiento sobre cuestiones estadísticas tratadas en la presente tesis doctoral.

A mi maestra Rosa Vanderhorst, por su entrega, por estar presente en cada uno de los momentos de dificultades y siempre tener una palabra de motivación y ofrecerme todo su apoyo incondicional, gracias infinitas.

A mis amigas/os de la vida, Benita Castillo, María Antonia, Alejandra, Julio Zigadlo, Wendy, Bethania, Milagros, Andújar, Itamar, Tatiana, Juan tomas, María Magdalena, Richard, Willi, Berky, Nilsa Mella.

A mis amigas/os de mi espacio laboral como son Lucía, Adela, Elizabeth, Mónica, Amanda, Elsa, Yulissa, Nieves, Loida, Anni, César, Melvin, Elisa, Atharva, Héctor Peralta, Elvis, Donny, Tello, María, Maira, Ana, Karina, Aina, Santa, Bolívar, Darío, Gloria, Maireni, por el ánimo y porque siempre me han acompañado en tantos momentos.

A las personas que trabajan en el Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria, por su colaboración: Flrida de León, Máximo Mejía, Paola Ceballos, Jeury Martínez, Evelyn Hernández, Jhonny Mateo, Joseylin Ramírez, Carlos Gómez, Willy Lara,

Santo Mateo, Aina Ramírez, Alejandra Tabar, José Núñez, César Segura, Felipe Alfau, Emilio Sanz y Fausto Fray.

A las personas que trabajan en el Liceo Nocturno Guaricano Adentro por su comprensión durante mi proceso de formación: Celidió, Sandra, Siomara, Elena, Agripina, Mosquea, Lurdes, Wilson, Santa, Milo, Richard, Flora, Ignacia, Michel, Rafael, Francia.

Agradezco a mis padres Victoriana Sánchez, mi ángel, y Manuel de Jesús Ramírez, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, valores, por las motivaciones incesantes que me han permitido ser una persona de bien, por el ejemplo de perseverancia y constancia que me han infundido siempre.

A mis familiares por ser mi apoyo emocional incondicional durante los días de mi preparación, mis hermanos: Narcisa, Nelly, Emiliana, Martín, José, Pascual, Milcia, Crucelys, Miguel Ángel, Victoria, Annery, Eida, Nelo, Daido, Noidi, Manaury, Meranny, Meraly, Dariner.

Gracia a mi esposo Omar y a mis hijas Beverlyn y Evelyn, mis compañeros de viaje, por ser las personas más sacrificadas durante mi preparación académica y tener su apoyo incondicional, por su comprensión en estas cuestiones de hacer ciencia y ser madre, por su espera durante estos largos años, sin su apoyo todo este esfuerzo tal vez no hubiera sido posible.

A los Drs. Arturo Massol y Luis Wong, por darme la oportunidad de formarme como investigadora, gracias infinitas.

Durante estos años personas muy queridas han partido de este mundo como Desirée y mi querido Dr. Andrés Guerrero, que siempre me orientó para la vida, por sus

enseñanzas, la confianza depositada en mí y su ayuda en la motivación constante para seguir a delante.

La consecución de estos pequeños éxitos personales ha sido posible gracias al apoyo emocional y buenos deseos de mis seres queridos durante mi búsqueda del saber. Siendo este logro, para todos ellos, los vivos y los muertos, porque forman parte de lo que soy, porque siempre estarán conmigo.

¡¡¡Gracias infinitas a todos!!!

ÍNDICE

| | | |
|---|-----|----|
| RESUMEN | ... | 1 |
| ABSTRACT | ... | 3 |
| JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS | ... | 5 |
| | | |
| CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL | ... | 9 |
| 1.1. Contaminación de suelo por elementos traza | ... | 11 |
| 1.2. Riesgo ambiental, movilidad y biodisponibilidad del plomo en los suelos | ... | 18 |
| 1.2.1. Plomo en el medio ambiente. Fuentes | ... | 18 |
| 1.2.2. Movilidad y biodisponibilidad del plomo | ... | 19 |
| 1.2.3. Efectos del plomo en la salud y riesgos ambientales | ... | 22 |
| 1.3. La recuperación de los suelos contaminados | ... | 23 |
| 1.3.1. Tecnologías para la recuperación de suelo contaminado | ... | 24 |
| 1.4. Bibliografía | ... | 29 |
| | | |
| CAPÍTULO 2. DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR PLOMO EN LOS SUELOS DE LA ZONA DE HAINA, REPÚBLICA DOMINICANA | ... | 45 |
| 2.1. Introducción | ... | 47 |
| 2.2. Material y métodos | ... | 51 |
| 2.2.1. Zona de estudio | ... | 51 |
| 2.2.2. Muestras de suelo | ... | 53 |
| 2.2.3. Procesado y análisis de las muestras de suelo | ... | 61 |

| | | |
|--|-----|----|
| 2.2.4. Evaluación de la contaminación por elementos traza | ... | 61 |
| 2.2.5. Análisis estadístico | ... | 63 |
| 2.3. Resultados y discusión | ... | 63 |
| 2.3.1. Origen y distribución espacial de elementos traza en los suelos del área de Haina | ... | 69 |
| 2.3.2. Evaluación de la contaminación y el riesgo ambiental por elementos traza de los suelos superficiales de Haina | ... | 72 |
| 2.4. Conclusiones | ... | 75 |
| 2.5. Bibliografía | ... | 77 |

| | | |
|--|-----|----|
| CAPÍTULO 3. DISTRIBUCIÓN DEL PLOMO Y OTROS METALES EN LA VEGETACIÓN DE LA ZONA DE HAINA, REPÚBLICA DOMINICANA | ... | 89 |
|--|-----|----|

| | | |
|--|-----|----|
| 3.1. Introducción | ... | 91 |
| 3.1.1. Afección de los ecosistemas por elementos traza | ... | 91 |
| 3.1.2. Interés de la fitorremediación para la recuperación de los suelos contaminados | ... | 91 |
| 3.1.3. Interés de los estudios sobre plantas con capacidad fitorremediadora en la República Dominicana | ... | 94 |
| 3.1.4. Estudios a promover en el campo de la fitorremediación sobre la vegetación natural del entorno del área industrial de Haina, República Dominicana | ... | 95 |
| 3.2. Material y métodos | ... | 99 |
| 3.2.1. Especies vegetales objeto de estudio | ... | 99 |

| | | |
|---|-----|-----|
| 3.2.2. Recogida de muestras | ... | 103 |
| 3.2.3. Procesado y análisis de las muestras vegetales | ... | 107 |
| 3.2.4. Factor de Bioacumulación y Factor de Translocación | ... | 108 |
| 3.2.5. Análisis estadístico | ... | 109 |
| 3.3. Resultados y discusión | ... | 110 |
| 3.3.1. Concentración de elementos traza en plantas | ... | 110 |
| 3.3.2. Variación de la concentración de elementos traza a nivel espacial y específico | ... | 118 |
| 3.3.3. Bioacumulación y translocación de elementos traza en plantas | ... | 122 |
| 3.3.4. Interés de las especies estudiadas dentro del campo de la fitorremediación | ... | 128 |
| 3.4. Conclusiones | ... | 132 |
| 3.5. Bibliografía | ... | 134 |
| Anexos | ... | 147 |

CAPÍTULO 4. ENSAYOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA TOLERANCIA Y LOS NIVELES DE BIOACUMULACIÓN DE PLOMO POR DIVERSOS TAXONES DE INTERÉS AGRONÓMICO ... 167

| | | |
|--|-----|-----|
| 4.1. Introducción | ... | 169 |
| 4.1.1. Efectos del plomo sobre el medioambiente y las plantas | ... | 169 |
| 4.1.2. Adaptaciones de las plantas a la contaminación por plomo | ... | 169 |
| 4.1.3. Selección de plantas fitorremediadoras de entornos contaminados por plomo | ... | 170 |

| | | |
|--|-----|-----|
| 4.1.4. Taxones vegetales de interés para la fitorremediación de suelos contaminados por plomo en Haina | ... | 172 |
| 4.2. Material y métodos | ... | 173 |
| 4.2.1. Especies vegetales objeto de estudio | ... | 173 |
| 4.2.2. Cultivos <i>in vitro</i> | ... | 180 |
| 4.2.3. Procesado y análisis de las muestras vegetales | ... | 182 |
| 4.2.4. Factor de Bioacumulación | ... | 183 |
| 4.2.5. Análisis estadístico | ... | 183 |
| 4.3. Resultados y discusión | ... | 184 |
| 4.3.1. Efecto de la concentración de plomo en el medio sobre la producción de biomasa | ... | 185 |
| 4.3.2. Efecto de la concentración de plomo en el medio sobre el crecimiento radical | ... | 189 |
| 4.3.3. Concentración de plomo en los tejidos vegetales. Factor de Bioacumulación | ... | 193 |
| 4.3.4. Interés de los taxones estudiados dentro del campo de la fitorremediación | ... | 201 |
| 4.4. Conclusiones | ... | 205 |
| 4.5. Bibliografía | ... | 209 |
| CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES GENERALES | ... | 219 |

RESUMEN

La presente investigación se realizó en la comunidad de Haina, ubicada al sur de Santo Domingo (República Dominicana), designada por el Instituto Blacksmith (EE UU) como el tercer lugar más contaminado del planeta, debido a la acumulación de metales pesados, especialmente plomo, donde estuvo ubicada durante 20 años una fábrica de reciclaje de baterías ácidas.

Los objetivos de este estudio fueron: i) evaluar los niveles de contaminación por Plomo (Pb) y otros elementos traza como Cromo (Cr) y Zinc (Zn) de los suelos de la zona objeto de estudio; ii) buscar nuevas especies vegetales propias de ambientes tropicales y habituales en la zona de estudio, útiles desde el punto de vista de la fitorremediación; iii) evaluar el potencial de algunos taxones de interés agronómico cultivados en áreas tropicales para su uso en labores de fitorremediación, mediante la determinación de sus niveles de tolerancia y de bioacumulación de Pb.

Se seleccionaron 11 zonas de estudio, nueve de ellas formando una malla alrededor del foco de contaminación, otra ligeramente alejada y una zona de control considerada, *a priori*, libre de contaminación. Las muestras de suelo de cada zona se sometieron a digestión ácida para evaluar la concentración total de los elementos estudiados mediante Espectrometría de Absorción Atómica (AAS). Para el estudio del potencial de la vegetación de la zona de Haina se seleccionaron siete plantas vasculares (*Acalypha alopeuroides*, *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa*, *Heliotropium angiospermum*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*), en las cuales se analizaron por separado las partes subterráneas y las partes aéreas; todas las muestras vegetales fueron sometidas a digestión ácida y la medición de los elementos traza se realizó mediante Espectrometría de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES). Finalmente, se escogieron nueve taxones de interés comercial cultivados en la zona de Haina o con potencial para este fin (pertenecientes a los géneros *Ananas*, *Chrysanthemum*, *Dioscorea* y *Musa*), se hicieron crecer *in vitro*, en medios de cultivo con diferentes niveles de contaminación de Pb y se sometieron a digestión ácida para evaluar la concentración total de Pb mediante AAS.

Los resultados obtenidos mostraron que los suelos de las zonas situadas en el entorno de la antigua fábrica de baterías y su entorno, así como en zonas situadas a favor

de pendiente, presentaban elevados valores de Pb con respecto a los “valores límite” legales existentes en diversas legislaciones internacionales. Lo mismo sucedía, aunque a menor escala, con el Zn, mientras que no se constató ningún riesgo en relación al Cr.

Ninguna de las especies de plantas silvestres analizadas mostró tener potencialidad para labores de fitoextracción de Pb y Cr. Por el contrario, todas ellas, excepto *Achyranthes aspera*, podrían ser útiles en tareas de fitoextracción de Zn. Las especies que tendrían algún interés en labores de fitoestabilización en áreas con características similares, enumeradas de mayor a menor capacidad de bioacumulación de Pb, son: *Acalypha alopecuroides*, *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum* y *Sida rhombifolia*, aunque la primera es la menos interesante dada su baja producción de biomasa.

En relación a los taxones de interés agronómico estudiados, en general, presentaron una alta potencialidad para la fitoextracción, ya que mostraron capacidad para acumular cantidades muy elevadas de Pb y unos elevados valores en su Factor de Bioacumulación. Los cuatro taxones del género *Musa* (*Musa* Grupo AAB, *Musa* Grupo AAAB, *Musa acuminata* y *Musa* × *paradisiaca*, por este orden), junto con *Ananas comosus*, presentaron la mayor potencialidad dentro del campo de la fitoextracción de Pb, aunque los de *Musa* mostraron una alta intolerancia al Pb. Les siguieron a una buena distancia las tres cultivariedades de crisantemos (*Chrysanthemum* ‘Sheena’, *Chrysanthemum* ‘Reyellow’ y *Chrysanthemum* ‘Renella’, por este orden) y por la especie *Dioscorea trifida*. Con respecto a esta última, dado que se ha reportado en la literatura que otro taxón de *Dioscorea* mostró una importante afección de sus partes subterráneas por metales pesados, y que la parte comestible de esta planta es un tubérculo, sería inviable su aprovechamiento alimenticio.

Se concluye, por tanto, que es urgente la implementación en Haina de un programa de mitigación aplicando técnicas que, como la fitorremediación, consigan una reducción de la carga metálica contaminante en estos suelos. El cultivo de *Ananas comosus* podría ser interesante con fines productivos comerciales ya que, según datos de la literatura, sus frutos acumulan concentraciones insignificantes de metales pesados y por tanto podrían ser usados para consumo humano; sería necesario, no obstante, llevar un estricto control de los niveles de transferencia de los elementos tóxicos a éstos. Los taxones del género *Chrysanthemum*, además de ser tenidos en cuenta para labores de fitoextracción, podrían ser utilizados para la producción de flor ornamental.

ABSTRACT

This research was conducted in the region of Haina, situated at the south of Santo Domingo (Dominican Republic). The Blacksmith Institute (USA) considers this region as the third with the highest contamination, mainly due to heavy metals (Pb). This contamination was originated by a battery recycling plant, which operated for 20 years in the area.

The main goals of this study were: i) to determine the levels of contamination in the area with lead (Pb) and other trace metals like chrome (Cr) and zinc (Zn) in the soils of the studied zone, ii) to identify plant species of tropical climate and frequent in the study area, useful under the point of view of phytoremediation, iii) to evaluate the potential of some plant species cultivated in the area in phytoremediation by measuring their levels of resistance to Pb and their bioaccumulation.

Eleven zones were selected for this study, nine of which forming a net around the contamination source, another zone slightly more distant and a control zone *a priori* without contamination. The soil samples of each point were acid digested to determine the total concentration of the studied trace metals by Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). For the study of the potential of the flora present in Haina, seven vascular plant species were selected (*Acalypha alopecuroides*, *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa*, *Heliotropium angiospermum*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*). In all cases the subterranean parts and the aerial parts of the plants were measured separately by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES). Finally nine taxa of plants used commercially in the region of Haina were selected to study their potential use in phytoremediation (belonging to the genera *Ananas*, *Chrysanthemum*, *Dioscorea* and *Musa*), which were grown *in vitro* in media with different grades of contamination with Pb and then acid digested to determine the concentration of lead by AAS.

The obtained results showed that the soils near the former battery plant and the zone situated downhill are still contaminated with high levels of Pb in comparison with the legal limits established by several international administrations. The same occurs to a lesser degree with Zn while there is no risk related to Cr.

None of the wild plants showed a potential for use in phytoextraction of Pb and Cr, but all of them, with the exception of *Achyranthes aspera* could be used in the case of Zn. The species with a potential in phytostabilization in areas with similar characteristics, ordered according to the observed bioaccumulation of Pb (decreasing) are *Acalypha alopecuroides*, *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum* y *Sida rhombifolia* although the first is less interesting because of the low biomass it produces.

Concerning the taxa of commercial interest, they generally showed a high potential for phytoextraction, because all of them accumulated high amounts of Pb and showed high levels of the Bioaccumulation Factor. The four taxa of the genus *Musa* (*Musa* group AAB, *Musa* group AAAB, *Musa acuminata* and *Musa* × *paradisiaca*, in this order), together with *Ananas comosus* showed the highest potential for phytoextraction of Pb, although the genus *Musa* were intolerant to high concentrations of Pb. They were followed by the three cultivars of *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum* ‘Sheena’, *Chrysanthemum* ‘Reyellow’ and *Chrysanthemum* ‘Renella’, in this order) and the species *Dioscorea trifida*. Because of the fact that in the literature another taxon of the genus *Dioscorea* is shown to accumulate heavy metals in the subterranean parts and the edible part of the plant is a subterranean tuber, the use of this plant as food source on contaminated soils is not viable.

Therefore, as a general conclusions we suggest that it is urgent to implement in Haina a program in order to control the contamination with techniques like phytoremediation to reduce the levels of metals in the soils. The cultivation of *Ananas comosus* might be interesting as a commercial product because according to the available literature, its fruits do not accumulate significant amounts of heavy metals and can therefore be used for human consumption, nevertheless, a strict control of the transfer of toxics elements to the fruits would be necessary. The taxa of the genus *Chrysanthemum*, in addition to their use in phytoextraction may be used as ornamental flowers.

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Como consecuencia de diversas actividades humanas, tales como la fundición, la minería, la fabricación de pintura, la combustión de gasolina, las actividades agrícolas y el reciclaje de baterías ácidas, se ha producido un rápido aumento del nivel de plomo (Pb) en el ambiente.

En el caso concreto de las plantas de reciclaje de baterías ácidas, las distintas operaciones que se realizan, como la ruptura de los acumuladores, el drenaje del ácido, la separación del metal y, en algunos casos, la fundición del Pb recuperado, han ocasionado la presencia de elevados niveles de este metal, tanto en el suelo como en la vegetación de las zonas cercanas a donde se ubican. La medida de la concentración de Pb en suelo de los alrededores de las fábricas ha evidenciado que ésta disminuye con la distancia a la fuente de contaminación. Así, en Canadá reportaron niveles de 51.000 mg/kg en el suelo circundante a una planta de reciclaje de baterías y de 120 mg/kg a un km de distancia del foco contaminante. En Taiwán se detectaron 1.000 mg/kg en el suelo adyacente a una instalación industrial de reciclaje y 100 mg/kg a dos km de distancia.

La República Dominicana posee diversas áreas con efectos marcados por la contaminación, producto de la acumulación de compuestos venenosos que alcanzan niveles alarmantes. Una de ellas es la comunidad de Haina, ubicada en la provincia de San Cristóbal, al sur de Santo Domingo, que ha alcanzado fama por haber sido designada por el Instituto Blacksmith (EE UU) como el tercer lugar más contaminado del planeta, debido a la exorbitante acumulación de metales pesados en áreas densamente pobladas (con aproximadamente 100.000 habitantes), especialmente por presencia de Pb.

La presente Tesis Doctoral trata de conocer la concentración actual de Pb y otros metales pesados, tales como Cromo (Cr) y Zinc (Zn) en la zona donde estuvo ubicada durante 20 años la planta de reciclaje de baterías ácidas de la empresa Metaloxa, así como en sus alrededores, para determinar el grado de contaminación existente en los suelos de la comunidad de Haina. Asimismo, intenta saber la capacidad bioacumuladora de Pb y otros metales que tienen determinadas especies vegetales silvestres de la zona para ser usadas en tareas de fitorremediación. Y por último, procura testar el potencial fitorremediativo de algunas plantas de interés agronómico para la República Dominicana, sobre la base de su

eficacia en la remoción de estos metales del suelo (especialmente del Pb), y que podrían usarse también en otros lugares del país con problemas parecidos.

La contaminación por elementos traza es un riesgo grave para la salud humana y ambiental. La biotecnología moderna ha generado repuestas costo-efectivas y técnicamente factibles para la remoción de metales pesados y otros elementos en entornos contaminados usando organismos vivientes, como bacterias y plantas.

Dentro del amplio abanico de tecnologías existentes para la restauración de los suelos contaminados por elementos traza, 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, se trata de una técnica que 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 elementos traza contaminantes que presentan una escasa movilidad y biodisponibilidad para las plantas, como el Pb, dificultan, por otra parte, la aplicación efectiva de determinadas técnicas de fitoextracción en suelos contaminados.

En este contexto, se plantea el presente trabajo con el objetivo general de evaluar diferentes especies vegetales, tanto locales como cultivadas, de interés agronómico y potencialmente utilizables en tecnologías de fitoextracción. Para ello, se llevaron a cabo diferentes campañas de muestreo y ensayos *in vitro* con la finalidad de responder específicamente a los siguientes objetivos:

1. Evaluación de los niveles de contaminación de los suelos de la zona objeto de estudio (capítulo 2).

2. Búsqueda de nuevas especies vegetales en ambientes tropicales de interés desde el punto de vista de la fitoextracción mediante muestreos de suelos y plantas en áreas de elevada concentración de elementos traza. El área de Haina, con suelos contaminados por Pb, principalmente, a causa de la contaminación industrial, presenta una importante comunidad vegetal con un alto potencial para la búsqueda de nuevas especies de interés en este campo (capítulo 3).

3. Evaluación del potencial de algunas especies de interés agronómico en áreas tropicales seleccionadas para su uso en técnicas de fitoextracción mediante ensayos *in vitro* para la determinación de la tolerancia y los niveles de bioacumulación de Pb de estos taxones (capítulo 4).

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1.1. CONTAMINACIÓN DE SUELO POR ELEMENTOS TRAZA

El término “elemento traza” no ha sido nunca definido con precisión (Kabata-Pendias, 2010). Ha sido utilizado en geoquímica para referirse a los elementos químicos que aparecen en la corteza terrestre en cantidades inferiores al 0,1% (1.000 mg/kg), pero también se ha utilizado en las ciencias biológicas para hacer referencia a los elementos que aparecen en similares concentraciones a las anteriormente citadas. Por lo tanto, algunos elementos que se pueden definir como “traza” en los materiales biológicos no son tales para los materiales geológicos y edáficos, como p. ej. el caso del Fe (Kabata-Pendias, 2010). El término “elemento traza” está relacionado con su abundancia e incluye elementos de distintas propiedades químicas, como es el caso de los metales y los metaloides.

Algunos autores consideran esta definición un tanto ambigua y prefieren utilizar la denominación de metales traza; bajo esta denominación se engloban todos los elementos presentes a concentraciones no detectables mediante técnicas de análisis clásicas, de forma, que se considera elemento traza a los elementos detectables en un rango de concentración de 100 a 0,01 mg/kg y se reserva el término ultratrazas para aquellos elementos presentes en los suelos en unas concentraciones que están en el rango de los $\mu\text{g}/\text{kg}$ y ng/kg ; esta definición tiene también la ventaja de incluir a elementos no propiamente metálicos como p. ej. el As, que es considerado como un metaloide (Kabata-Pendias, 2010).

Los cationes traza comunes se describen como “metales traza” o como “metales pesados”. Por su parte, los “metaloides traza” son simplemente “elementos traza” (Kabata-Pendias, 2010). Otras denominaciones como “micronutrientes”, “elementos esenciales” y “elementos tóxicos” están relacionadas con las anteriores por sus funciones fisiológicas y son bastante confusas, ya que sus efectos dependen del organismo, y su impacto sobre la salud está directamente relacionado con su concentración. Todas ellas resultan por tanto, inadecuadas, lo que ha generado situaciones ambiguas en la literatura y ha llevado a que los distintos autores empleen estos términos de forma indistinta. En particular, el término “metales pesados” ha sido muy ampliamente utilizado, sobre todo cuando se trataba de temas relacionados con el riesgo ambiental o químico, incluyendo a un grupo de metales y semimetales (metaloides) que han estado relacionados con la contaminación y la toxicidad potencial o ecotoxicidad (Duffus, 2002). En general, todos los elementos traza son tóxicos si se ingieren o inhalan en cantidades suficientemente altas y durante largos periodos de

tiempo (Fernandes y Henriques, 1991). En algunos casos como Se, F y Mo presentan un estrecho margen (del orden de unas pocas ppm) entre los niveles de deficiencia y los tóxicos (Plant *et al.*, 2001).

Desde un punto de vista químico, este término está basado en criterios como el peso atómico, el número atómico, la densidad, las propiedades químicas, etc. Así, el uso inconsciente de “metales pesados” puede considerarse, en ocasiones, como un síntoma de inconsistencia en la literatura científica. Además, no ha sido nunca definido por ninguna autoridad científica, como p. ej., la International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC (Kabata-Pendias, 2010).

Se considera metal pesado al elemento metálico que tiene una densidad igual o superior a 6 g/cm^3 cuando está en forma elemental (Kabata-Pendias y Pendias, 1992), o cuyo número atómico es superior a 20, excluyendo los metales alcalinos o alcalinotérreos (Tiller, 1989). En cualquier caso, existe una clara discrepancia social entre la definición química de metal pesado y la significación vulgarizada del término, utilizada para describir a aquellos metales con potencialidad tóxica, fundamentalmente para el hombre. En este sentido, hay que aclarar que muchos de ellos son elementos, a la vez, esenciales para la nutrición vegetal, tal y como ocurre con Cu, Fe, Mn, Mo, Ni y Zn, entre otros; su presencia en la corteza terrestre suele ser inferior al 0,1% y casi siempre menor del 0,01%. Junto a estos metales pesados hay otros elementos químicos, As, B, Ba y Se que se suelen englobar con ellos por presentar orígenes y comportamientos asociados (Phipps, 1981). A la vista de todo lo expuesto, nosotros hemos optado por la utilización preferente del término “elemento traza” conforme a lo indicado por autores de referencia (Duffus, 2002; Kabata-Pendias, 2010).

Dentro de los elementos traza se distinguen dos grupos (Brady y Weil, 2002; Figura 1.1):

- Oligoelementos: elementos necesarios para el desarrollo de la vida de determinados organismos. Son requeridos en pequeñas cantidades o cantidades traza y pasado cierto umbral se vuelven tóxicos. Dentro de este grupo se encuentran: B, Co, Cr, Cu, Fe, Mo, Mn, Ni, Se y Zn.
- Metales pesados y metaloides sin función biológica conocida: elementos cuya presencia en determinadas cantidades en los seres vivos provocan disfunciones. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en

los organismos. Son, principalmente: Al, Cd, Hg y Pb entre los metales y As entre los metaloides.

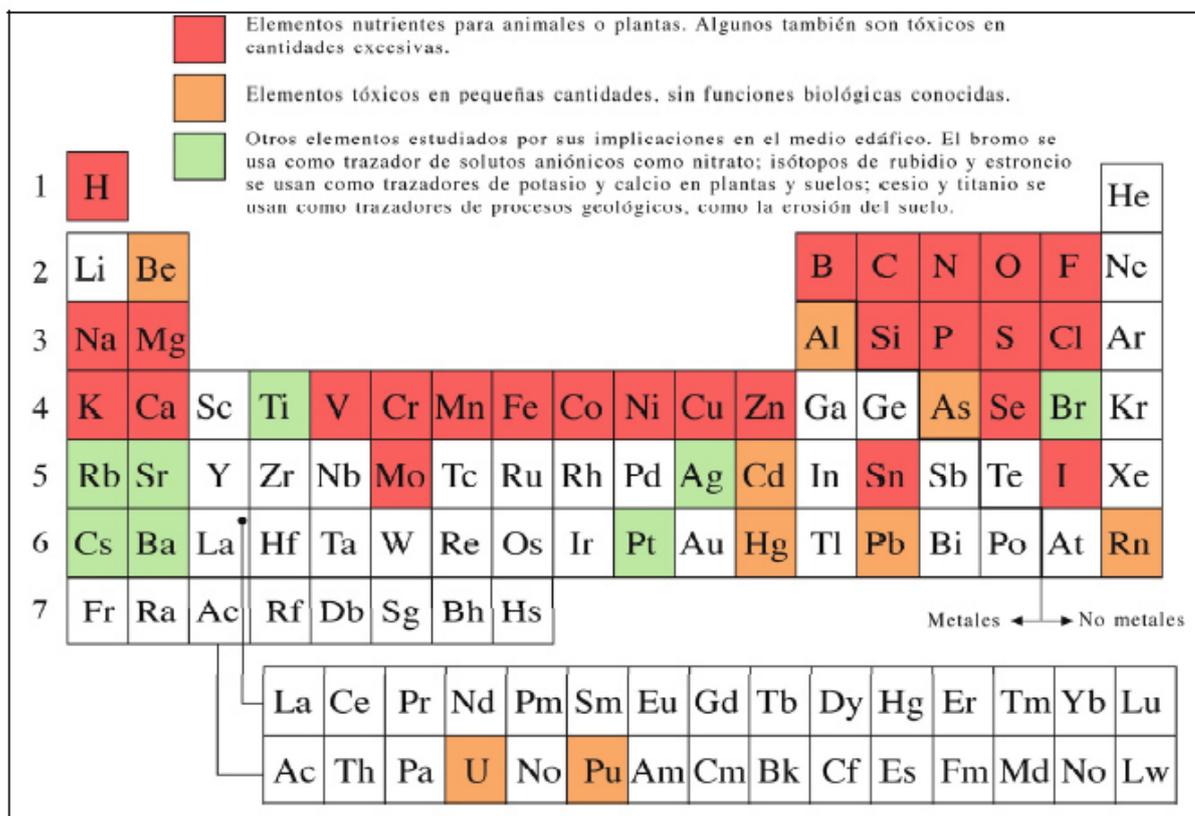


Figura 1.1. Tabla periódica de los elementos con anotaciones de relevancia en el estudio de los suelos (Fuente: Brady y Weil, 2002)

Por tanto, si bien algunos elementos como Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, V y Zn, son esenciales para el crecimiento de muchas formas de vida, también tienen efectos tóxicos sobre las células, esencialmente como resultado de su capacidad para alterar o desnaturalizar las proteínas (Cañizares-Villanueva, 2000). En concreto el Pb es el metal con propiedades tóxicas que más se ha propagado en el ambiente en las últimas décadas, pudiendo causar en humanos alteraciones neurológicas, nefrotoxicidad, anemia y cáncer de riñón (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007).

Los elementos traza más abundantes en los suelos pueden clasificarse en cinco categorías, de acuerdo con la forma química en que se encuentran en las soluciones del suelo (Bowen, 1979): cationes (Ag^+ , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Hg^+ , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}), metales nativos (Hg, V), oxianiones (AsO_4^{3-} , CrO_4^{2-} , $HSeO_3$, MnO_4^{2-} , SeO_4^{2-}), halogenuros (Cl, Br,

I⁻ F⁻) y organocomplejos (Ag, As, Hg, Se, Te, Tl). Estas categorías no se excluyen mutuamente, porque algunos elementos pueden aparecer con más de una forma. Normalmente, Cr, Ni, Pb, y Zn varían su concentración en suelos entre 1-1500 mg/kg; As, Cu y Co entre 0,1 y 250 mg/kg y con menores concentraciones, Cd y Hg (0,01-2 mg/kg) (Bowen, 1979).

De todos los elementos traza encontrados en suelos, hay 17 que se consideran muy tóxicos y a la vez fácilmente disponibles en concentraciones que sobrepasan los niveles de toxicidad. Éstos son: Ag, As, Bi, Cd, Co, Cu, Hg, Ni, Pb, Pd, Pt, Sb, Se, Sn, Te, Tl y Zn. De ellos, 10 son fácilmente movilizados por la actividad humana en proporciones que exceden en gran medida las de los procesos geológicos, es el caso de: Ag, As, Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Sn y Tl (Novotny, 1995). La USEPA (United States Environmental Protection Agency) incluye en la lista de contaminantes principales los siguientes 13 elementos traza: Ag, As, Be, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Se, Tl y Zn (USEPA, 1986, 1998).

Los elementos traza han sido objeto de atención por sus características contaminantes peculiares, ya que poseen carácter acumulativo y su concentración no disminuye con el tiempo; son necesarios y beneficiosos para las plantas y otros organismos a determinados niveles, pero también son tóxicos cuando exceden unos niveles de concentración; están siempre presentes en los suelos a unos niveles de concentración denominados niveles fondo, cuyo origen no es externo, sino que proviene del material parental originario de las rocas y su transformación (Facchinelli *et al.*, 2001).

Cabe distinguir, por tanto dos tipos de procedencia para los elementos traza (Facchinelli *et al.*, 2001):

- Origen natural: las rocas, de acuerdo con su origen ígneo, metamórfico y sedimentario, presentan una composición diferenciada en la que los elementos O, Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, P, Si y Ti significan más del 99% del contenido de elementos de la corteza terrestre. El resto se denominan "elementos traza". Salvo excepciones, su concentración individual no excede de 1.000 mg/kg -0,1%- (Mitchell, 1964).

- Origen antropogénico: en muchos casos el contenido y la movilidad de los elementos traza en suelos se incrementa por causas no naturales, siendo la actividad humana, la causa más frecuente de este incremento.

El suelo actúa como un filtro biológico, controlando el transporte de sustancias y elementos químicos hacia la atmósfera, la hidrosfera y la biota, por otro lado, la persistencia de los elementos traza en el suelo es mucho mayor que en otros compartimentos de la biosfera (Adriano, 1986).

Todo mineral es susceptible de alteración en mayor o menor grado y la liberación de los elementos traza se realiza principalmente gracias a acciones de sustitución isomórfica en la estructura del cristal que está gobernada por la carga iónica, el radio iónico y la electronegatividad del elemento más importante y del elemento traza que los sustituye; así, la sustitución se puede realizar cuando el radio del ión a sustituir y del sustituyente se diferencian hasta en un 15%, cuando la densidad de carga de ambos no difiere en más de una unidad y el ión que se introduce está en mayor proporción que el del elemento a sustituir (Krauskopf, 1967).

Una vez en el suelo, la dinámica que siguen los elementos traza puede ser bastante compleja; de la cantidad total de un elemento traza en el suelo se pueden distinguir fracciones con distinta movilidad, de las cuales la fracción biodisponible, que puede ser más fácilmente absorbida por los organismos, es la que presenta mayor interés (Domínguez, 2009). La biodisponibilidad de estos elementos para un organismo concreto depende de la propia naturaleza del elemento, de múltiples factores del suelo, así como del propio organismo, ya que los seres vivos pueden modificar las condiciones de su entorno más inmediato de distintas formas, para así poder acceder a fracciones potencialmente poco disponibles de estos elementos traza (McGrath *et al.*, 1997). Por tanto, la biodisponibilidad real de un elemento traza no siempre coincide con la fracción más fácilmente extraíble por métodos químicos, como p. ej. las sales neutras o los agentes quelantes (Domínguez, 2009).

Los contaminantes en suelos y sedimentos se pueden hallar en seis formas diferentes (Rulkens *et al.*, 1995): como partículas (contaminantes particulados), como películas líquidas, adsorbidos, absorbidos, disueltos en el agua intersticial de los poros, o como fases sólidas en los poros. Para cada caso el comportamiento del contaminante es distinto, por tanto, el análisis químico del contenido total de los elementos traza de un suelo es una medida poco representativa de la peligrosidad de los posibles contaminantes. Indica, en todo caso, la peligrosidad potencial o futura, pero no la actual de un elemento determinado, siempre con referencia a ciertos valores acordados previamente, que no

deben ser superados. Por ello, además de este análisis, se debe disponer de datos sobre cómo se encuentran estos elementos potencialmente tóxicos, tanto en su forma física como química, y las fracciones asimilables, que es una medida directa de la peligrosidad real. De otra forma, la facilidad con la que un metal potencialmente tóxico puede acceder a la cadena alimenticia a través del suelo, depende de si el metal está libre en solución intersticial o en fases sólidas, o cómo el metal está ligado a las partículas de suelo y su forma química, o sea de su especiación. En este sentido, Kabata-Pendias (1995) señala que según se encuentre el metal retenido en el suelo, así será su disponibilidad relativa para las plantas y, por tanto, la incorporación a otros organismos.

Los elementos traza presentes en los suelos no se comportan como elementos estáticamente inalterables, sino que siguen unas pautas de movilidad generales (Alloway, 1997). Estas pautas podrían resumirse de acuerdo con García y Dorronsoro (2005) de la siguiente manera:

- quedar retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la solución o bien fijados por procesos de adsorción, complejación y precipitación.
- pasar a la atmósfera por volatilización.
- movilizarse a las aguas superficiales o subterráneas.
- ser absorbidos por las plantas y así, incorporarse a la cadena trófica.

El suelo se forma por la interacción de los sistemas atmósfera, hidrosfera y biosfera sobre la superficie de la geosfera; ocupa la interfase entre la geosfera y los demás sistemas, en la llamada Zona Crítica (Duffus, 2002; Kabata-Pendias, 2010), la parte más dinámica de la superficie de la Tierra. La meteorización química y mecánica de las rocas y la influencia de ciertos procesos microbiológicos producen el suelo; la meteorización está controlada esencialmente por la energía solar, que regula el ciclo del agua y alimenta los sistemas vivientes, y por circunstancias locales favorables (como la topografía) y propiedades intrínsecas de las rocas (permeabilidad, alterabilidad) (Ross, 1994).

Después de un largo periodo de meteorización, y bajo condiciones climáticas estables, el suelo puede alcanzar su equilibrio, pero cuando uno de los parámetros del sistema varía, el equilibrio se rompe (Sposito, 1984). La interacción con el hombre, un componente singular de la biosfera, puede romper también el equilibrio, debido a su uso (agricultura, industria, minería, ganadería, etc.); este tipo de modificación negativa del

suelo se denomina normalmente degradación; la presencia en los suelos de concentraciones nocivas de algunos elementos químicos y compuestos (contaminantes) es un tipo especial de degradación que se denomina contaminación (Bradshaw, 2000).

El contaminante está siempre en concentraciones mayores de las habituales (anomalías) y en general tiene un efecto adverso sobre algunos organismos; por su origen puede ser geogénico o antropogénico; los primeros pueden proceder de la propia roca madre en la que se formó el suelo, de la actividad volcánica o del lixiviado de mineralizaciones; por el contrario, los antropogénicos se producen por los residuos peligrosos derivados de actividades industriales, agrícolas, mineras, reciclado de bacterias y de los residuos sólidos urbanos; desde un punto de vista legal, los contaminantes antropogénicos son los verdaderos contaminantes (Kabata-Pendias, 1995).

Alloway (1997) sostiene que se pueden distinguir diferentes fuentes de contaminación de los suelos por elementos traza dependiendo de su origen; cuando la propia naturaleza del material originario y su alteración son los responsables de la contaminación, se denomina contaminación endógena; otras veces los aportes contaminantes son externos, frecuentemente como resultado de actividades antropogénicas, denominándose contaminación exógena; la contaminación de origen natural es significativamente menos importante que la de origen antropogénico. Según el mismo autor, otras causas que contribuyen a la contaminación del suelo por aporte directo son el uso inadecuado de fertilizantes minerales y productos fitosanitarios, el vertido de los residuos que se generan (estiércol, purines, residuos sólidos urbanos, lodos de estaciones depuradoras de aguas residuales...), y la utilización de aguas de calidad inadecuada para uso agrícola. Los vertidos industriales o la implantación de vertederos donde se acumulan distintos tipos de residuos, son además otras fuentes importantes de contaminación por metales pesados (Adriano, 1986; Ross, 1994).

El suelo se ha convertido en un medio receptor de multitud de sustancias potencialmente contaminantes; su condición de interfase entre la biosfera (biomasa terrestre, biomasa marina y hombre), la litosfera (corteza, suelo y sedimentos), la hidrosfera (agua dulce y agua de mar) y la atmósfera lo convierte en una “estación de tránsito” de los contaminantes, en la que pueden permanecer retenidos grandes períodos de tiempo (lo que aumenta la posibilidad de que puedan ser degradados y perder su naturaleza contaminante), o ser tan móviles que se incorporen a los demás medios y, de ahí, a las

redes tróficas con los consecuentes problemas que ello acarrearía (Fernández y Maldonado, 2000).

La toxicidad de un elemento o compuesto químico es la capacidad que tiene ese material de afectar adversamente alguna función biológica; los materiales o compuestos tóxicos no tienen origen biológico, excepto en el caso particular de las toxinas que son compuestos tóxicos biogénicos; los contaminantes pueden abandonar un suelo por volatilización, disolución, lixiviado o erosión, y pasar a los organismos cuando pueden ser asimilables (bioasimilables), lo que normalmente ocurre cuando se encuentran en forma más o menos soluble (García *et al.*, 2005).

En concreto, la posibilidad de que un elemento (contaminante o no) quede liberado y pase a disolución en un suelo se conoce con el nombre de disponibilidad; la biodisponibilidad sería el grado de libertad en que se encuentra un compuesto de una fuente potencial para ser absorbido por un organismo (ingerido o capturado) (Strand *et al.*, 1995). Normalmente, sólo una fracción pequeña de una sustancia altamente contaminante de un medio es denominada biodisponible; su efecto suele ser negativo, pero también puede ser indiferente para un organismo específico (García *et al.*, 2005).

La biodisponibilidad de un elemento es función de: a) la forma química y física en la que se encuentra en el medio; y b) la capacidad de los organismos para absorberlo o ingerirlo. Estos elementos pueden ser acumulados en el organismo (bioacumulación) hasta tres, cuatro o cinco órdenes de magnitud mayores que la concentración del medio donde vive (He *et al.*, 1998).

1.2. RIESGO AMBIENTAL, MOVILIDAD Y BIODISPONIBILIDAD DEL PLOMO EN LOS SUELOS

1.2.1. PLOMO EN EL MEDIO AMBIENTE. FUENTES

Los elementos traza contribuyen fuertemente a la contaminación ambiental; la cantidad de elementos disponibles en el suelo es función del pH, del contenido de arcillas, del contenido de materia orgánica, de la capacidad de intercambio catiónico y de otras propiedades que las hacen únicas en términos de manejo de la contaminación (Legrand *et al.*, 2005). Además, algunos son esenciales para las células, pero en altas

concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, tales como humanos, organismos del suelo, plantas y animales (Navas y Lindhorfer, 2003).

Estos contaminantes pueden alcanzar niveles de concentración que provocan efectos negativos en las propiedades físicas, químicas y biológicas, tales como reducción del contenido de materia orgánica, disminución de nutrientes, variación del pH generando suelos ácidos, amplias fluctuaciones en la temperatura, efectos adversos en el número, diversidad y actividad en los microorganismos de la rizosfera, dificultad en el crecimiento de una cubierta vegetal protectora favoreciendo la aridez, la erosión del suelo y la dispersión de los contaminantes hacia zonas y acuíferos adyacentes, aumentando en consecuencia la vulnerabilidad de la planta al ataque por insectos, plagas y enfermedades, así como afectando a su desarrollo (Zhang *et al.*, 2007).

El Pb es un metal pesado de color blanco azulado, con tendencia al gris plateado, de alta densidad ($11,35 \text{ g/cm}^3$); en estado puro es blando y maleable, poco dúctil y mal conductor de la electricidad; como muchos metales, en ambientes húmedos se recubre de una capa de óxido; su número atómico es 207,2, su punto de fusión es $327,4 \text{ }^\circ\text{C}$ y el de ebullición es $1.740 \text{ }^\circ\text{C}$ (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007). El Pb es insoluble en agua, resistente a la acción del ácido sulfúrico; se disuelve lentamente en soluciones de agua acidificada con ácidos débiles como el ácido nítrico y en soluciones del mismo ácido, dando lugar a sales solubles; produce humos (vapores) metálicos a partir de $500 \text{ }^\circ\text{C}$, que son tóxicos y penetran en los alvéolos pulmonares (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007).

El mineral de Pb más común es su forma de sulfuro (la galena); los otros minerales de importancia comercial son el carbonato (cerusita) y el sulfato (anglesita), que son mucho más raros; también se encuentra Pb en varios minerales de U y de Th, ya que proviene directamente de la desintegración radiactiva (decaimiento radiactivo) (Pickering, 1986). Los minerales comerciales pueden contener poco Pb (alrededor del 3%), pero lo más común es un contenido de poco más o menos el 10%; los minerales se concentran hasta alcanzar un contenido de Pb de 40% o más antes de fundirse (Pickering, 1986).

1.2.2. MOVILIDAD Y BIODISPONIBILIDAD DEL PLOMO

El Pb llega a la atmósfera a través de liberaciones desde minas de Pb, fábricas que lo manufacturan, por aleaciones o compuestos de Pb, cuando se quema carbón, petróleo o

desechos y por las emisiones de los escapes de los vehículos que trabajan con gasolina (Ebbs y Kochian, 1998). Llega a los suelos desde el aire, desprendimientos de pedazos de pintura con Pb, edificios, puentes y otras estructuras; los vertederos pueden contener desechos de minerales de Pb proveniente de las municiones o de otras actividades industriales como p. ej. la manufactura de baterías. Llega al agua y queda en superficie o va a los sedimentos procedente de la deposición de polvo que contiene Pb desde la atmósfera, el agua residual de industrias que manejan Pb, agua de escorrentía en centros urbanos y apilamientos de minerales (Pérez Otero, 1992).

Algunos compuestos de Pb son transformados a otras formas de Pb por la luz solar, el aire y el agua; sin embargo, el Pb elemental no puede ser degradado (Ebbs y Kochian, 1998).

El uso del Pb en el pasado, p. ej., en la gasolina, es una de las causas principales de su presencia en el suelo y de los niveles más elevados que se encuentran cerca de carreteras; los niveles ambientales de Pb han aumentado más de mil veces durante los tres últimos siglos como consecuencia de la actividad humana (He *et al.*, 1998).

Las formas químicas en las que se encuentran los elementos traza en el suelo, así como su movilidad y biodisponibilidad, vienen determinadas por el conjunto de los diferentes componentes del suelo, así como por 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).

El equilibrio de los elementos traza 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). Los procesos que gobiernan la compartimentalización de elementos traza 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) (Basta *et al.*, 1993; Navas y Lindhorfer, 2003). 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; Sposito, 1989; McBride, 1994; Alloway, 1997).

El pH se considera el factor más importante 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, el V y el Cr y metaloides como el As y el Se, comúnmente menos móviles bajo condiciones ácidas (Adriano, 2001). 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 *et al.*, 1995).

La capacidad de adsorción de los óxidos de Al, Fe y Mn también puede jugar un papel importante en el control de la inmovilización de metales en los suelos y sedimentos (Jenne, 1968; Gadde y Laitinen, 1974). En adición, algunos elementos traza, como Co, Cu, Hg, Ni, Pb y Zn exhiben afinidades bastante altas por la materia orgánica, formándose complejos solubles e insolubles (Essington, 2004).

Finalmente, ciertas propiedades físico-químicas de los propios elementos, como su electronegatividad, 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 cual los elementos traza son adsorbidos en los constituyentes del suelo, de manera que aquellos elementos más electronegativos tienden a formar fuertes uniones covalentes con átomos de oxígeno en la superficie (Rauret *et al.*, 1999; Gleyzes *et al.*, 2002).

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 elementos traza muestran una marcada dependencia con la especiación y son frecuentemente correlacionados con la actividad del ión metálico libre (Knight y McGrath, 1995; Parker y Pedler, 1997). Los procesos de extracción secuencial son herramientas frecuentemente usadas para el establecimiento del fraccionamiento de metales en los suelos (Rauret *et al.*, 1999; Gleyzes *et al.*, 2002) y nos permiten identificar los principales puntos de unión y asociaciones de los elementos traza en los diferentes constituyentes del suelo; ello posibilita evaluar la removilización potencial de los metales y el riesgo de su liberación hacia la disolución del suelo (Kaasalainen y Yli-Halla, 2003). En adición, se utilizan comúnmente algunos métodos de extracción simple para el estudio de la ecotoxicidad y movilidad de elementos traza en los suelos, es decir, para determinar la fracción de elemento biodisponible (Cunningham *et al.*, 1996).

1.2.3. EFECTOS DEL PLOMO EN LA SALUD Y RIESGOS AMBIENTALES

El Pb es un elemento que no cumple ninguna función vital en el organismo humano y que resulta tóxico incluso en pequeñas dosis; puede afectar a casi todos los órganos y sistemas en el cuerpo, el más sensible es el sistema nervioso, tanto en niños como en adultos; los efectos del Pb en la salud de los niños pueden incluir problemas de comportamiento y de aprendizaje (hiperactividad), retraso en el crecimiento, problemas auditivos, dolores de cabeza y daño al cerebro y al sistema nervioso central; los adultos expuestos al Pb pueden sufrir problemas reproductivos, presión sanguínea alta, trastornos digestivos, dolor en los músculos y en las coyunturas, problemas de memoria y de concentración y trastornos nerviosos (Vaughan, 1993).

El Pb se fija a las enzimas y altera la estructura y función de muchas proteínas, interfiriendo así con la acción y la finalidad de muchos tipos diferentes de células del cuerpo; estos cambios pueden ocasionar daños permanentes a los órganos en crecimiento y en desarrollo y es muy difícil revertir los efectos; penetra en el cuerpo no sólo por vía oral, sino también por las vías respiratorias; los niños que viven cerca de

una fundición de Pb o una planta manufacturera de baterías para vehículos corren el gran riesgo de quedar expuestos a la toxicidad de ese elemento (Vaughan, 1993).

1.3. LA RECUPERACIÓN DE LOS SUELOS CONTAMINADOS

La restauración ambiental consiste en acciones sobre el suelo que permitan extraer, controlar, contener o reducir los contaminantes de un área determinada, considerando su uso actual y futuro, impidiendo además cualquier riesgo significativo para la salud humana y el medio ambiente (Robinson *et al.*, 1997).

En el ámbito de la Unión Europea, se contempla que los Estados miembros deberán asegurarse de que se toman acciones para restaurar los espacios contaminados identificados en su territorio nacional, tal como figura en la “*Thematic Strategy on Soil Protection*” (CEC, 2002). Todos estos espacios contaminados deberán ser restaurados en un periodo de tiempo de 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 conforme a la 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 “Programa Nacional de Remediación de Sitios Contaminados” (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 m³ de suelo y más de 9 millones de m³ de aguas subterráneas; el número de emplazamientos que finalmente se consiguieron recuperar fue de 212 (La Moncloa, Gobierno de España, 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 de Recuperación de Suelos Contaminados” se planificaron a través del “Plan de gestión de residuos peligrosos e solos contaminados de Galicia”, elaborado en 1995 (Xunta de Galicia, 1995). La ley de Residuos de 1998 (BOE nº 262, 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 (BOE 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”. Asimismo, indica “La recuperación de un suelo contaminado se llevará a cabo aplicando las mejores técnicas disponibles en función de las características de cada caso, según el decreto mencionado”.

Las actuaciones de recuperación deben garantizar que se 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, lo que se expresa de forma literal en el mencionado artículo 7 de la siguiente manera “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 elementos traza, 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 físicoquímicos, térmicos o biológicos, que se van a mencionar a continuación.

1.3.1. TECNOLOGÍAS PARA LA RECUPERACIÓN DE SUELO CONTAMINADO

La fitorremediación o fitocorrección se define como el uso de plantas para reducir los contaminantes en el medio ambiente (Pilon-Smits, 2005) y abarca un grupo de técnicas emergentes basadas en el uso de especies vegetales y sus microorganismos asociados para extraer, acumular, inmovilizar o transformar los suelos contaminados (Barceló y Poschenrieder, 1997; Cunningham *et al.*, 1997; Pilon-Smits *et al.*, 1999; Ghosh y Singh, 2005). Es una técnica relativamente eficiente, barata y limpia (Cunningham y Ow, 1996; Gardea-Torresdey *et al.*, 2005; Jadia y Fulekar., 2009).

La fitorremediación comprende una serie de fitotecnologías que incluyen la eliminación de contaminantes mediante técnicas de fitoextracción (Raskin, 1995), su extracción de la solución acuosa mediante técnicas de rizofiltración (Dushenkov *et al.*, 1995), la transformación mediante técnicas de fitovolatilización (Raskin *et al.*, 1997) y la inmovilización mediante técnicas de fitoestabilización (Salt *et al.*, 1995). No obstante, las tecnologías principales puede decirse que son dos: la fitoestabilización y la fitoextracción (Raskin, 1995) (Figura 1.2).

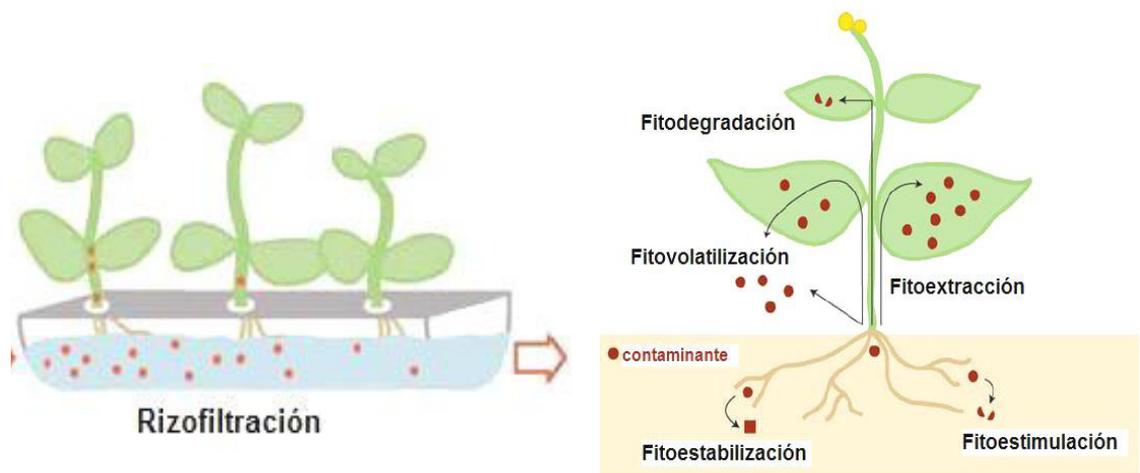


Figura 1.2. Representación esquemática de los distintos mecanismos de fitorremediación. El contaminante puede ser estabilizado o degradado en la rizosfera, secuestrado o degradado dentro de la planta, o volatilizado (modificado a partir de Pilon-Smits, 1999).

La fitoestabilización, tal y como se define en USEPA (2000), se refiere a la inmovilización de contaminantes en el suelo por la acumulación o la adsorción en las raíces, o la precipitación dentro de la rizosfera, sin existir una translocación hacia las hojas. Cuando la fitoestabilización se realiza con el objetivo de devolver el suelo contaminado a su anterior estado natural utilizando plantas nativas, el término fitorestauración (Peer *et al.*, 2006) es más adecuado.

Recientemente, se ha definido la técnica de la fitoexclusión como una nueva herramienta dentro de la fitoestabilización (Dickinson *et al.*, 2009), que supone el uso de fitoexcluidores, es decir, plantas que presentan bajos coeficientes de bioacumulación.

La fitoextracción, también llamada fitoacumulación, es una de las técnicas más interesantes debido a su capacidad para extraer totalmente los residuos tóxicos del suelo; se

fundamenta en que los sistemas radiculares de las plantas captan y absorben los contaminantes para almacenarlos posteriormente en su parte aérea, principalmente en hojas y tallos (Cunningham y Berti, 2000; Manousaki *et al.*, 2008).

Las plantas verdes, además de ser los pulmones de la naturaleza con una capacidad de purificar el aire impuro por la fotosíntesis, también tienen la capacidad única, en algunos casos, de captación, tolerancia e incluso hiperacumulación de elementos traza y otras sustancias tóxicas procedentes del medio, suelo y aguas básicamente, a través de las raíces y concentrarlos en raíces, tallo y hojas (Sharma, 2005).

Las partes de las plantas donde se acumula el contaminante pueden ser extraídas y destruidas o recicladas, retirando el metal del suelo (Cunningham *et al.*, 1995; Kumar *et al.*, 1995; Salt *et al.*, 1995; Saxena *et al.*, 1999). Con este objetivo, se seleccionan determinadas especies vegetales que se conocen como hiperacumuladoras; estas plantas presentan una acumulación extrema de metales en sus tejidos aéreos (Brooks, 1998) y son preferentemente utilizadas en este tipo de técnicas. Para considerar viable el proceso es importante que la acumulación del contaminante tenga lugar en la parte aérea de la planta, que es fácilmente cosechable, aunque algunos autores consideran la extracción de las raíces como una opción también viable en algunos casos (Entry *et al.*, 1996; Dickinson y Pulford, 2005).

La fitoextracción se está mostrando como un método de rehabilitación atractivo debido a que presenta ventajas ecológicas y económicas (Brown *et al.*, 1994). Debe considerarse, no obstante, como una tecnología a largo plazo, que puede requerir de varios ciclos de cultivo para reducir la concentración de los contaminantes a niveles aceptables (McGrath y Zhao, 2003; LeDuc y Terry, 2005). El tiempo requerido depende de la concentración y tipo de contaminante(s), de la duración del periodo de crecimiento y de la eficiencia de remoción de la especie utilizada y puede tomar entre uno y 20 años (Prasad y Freitas, 2003). Esta limitación podría verse atenuada mediante un incremento de la eficiencia de la fitoextracción, la cual se suele cuantificar en base a la eliminación de metal en los brotes, lo que depende de la concentración metálica en estas partes de las plantas (Wenzel, 2009). Ello varía según diversos factores, como son la habilidad de la planta para acumular y tolerar estos metales (Pulford y Watson, 1993; Chaney *et al.*, 2007), de los procesos rizosféricos implicados en la solubilización del metal antes de su absorción por las raíces (Fitz *et al.*, 2003), de la biomasa producida y del número anual de

ciclos de cultivo que se lleven a cabo (Chaney *et al.*, 2007). Un paso previo, antes de decidirse a aplicar una determinada especie fitoextractora dentro de una actividad de fitomanejo del suelo contaminado, sería saber tanto la biomasa producida como los niveles de concentración en la parte aérea de estas plantas (Wenzel, 2009).

Debería restringirse la aplicación de la fitoextracción solamente a aquellos suelos con niveles moderados de contaminación (McGrath y Zhao, 2003), o a los casos en que el material vegetal cosechado se utilice en las cadenas de conversión locales de materia prima de origen vegetal (Mench *et al.*, 2010), p. ej., para la producción de biocombustibles, astillas y paneles de madera, materiales ecológicos, etc.

Mediante la revegetación con especies vegetales tolerantes se consigue la inmovilización y reducción de la biodisponibilidad de los contaminantes, reduciendo el riesgo para el medio ambiente y la salud humana; la contaminación no es extraída 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 y Cunningham, 1998). El procedimiento se puede completar con la adición de enmiendas tipo acidificantes, fertilizantes o quelantes, que pueden facilitar la biodisponibilidad del contaminante hacia las raíces (Vangronsveld *et al.*, 1991, 1999; Lothenbach *et al.*, 1998; Berti y Cunningham, 2000; Prasad y Freitas, 2003); también pueden provocar 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), que promueven la formación de complejos metálicos insolubles que reducen su movilidad y disponibilidad biológica.

La fitoestabilización, sin embargo, no consigue una extracción del contaminante, 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 y Veith, 1995; Robinson *et al.*, 2000).

Las raíces de las plantas producen cambios en la especiación de metales al producir variaciones en el potencial de oxidorreducción, o potencial redox, secreción de protones,

secreción de agentes quelantes, etc.; gran parte de los iones metálicos son adsorbidos físicamente en las superficies externas de las paredes celulares cargadas negativamente (Lasat, 2002) o por enlaces químicos (p. ej. Pb-O, Marmiroli *et al.*, 2005), mientras que otros iones son absorbidos y secuestrados dentro de estructuras celulares de las raíces (p. ej. en 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 *et al.*, 1999), reduciendo la generación de polvo, la movilidad de metales y radionúclidos 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 (Vandenhove *et al.*, 1999; Stanley *et al.*, 2000; Stanley 2002; Pulford y Watson, 2003).

La fitoestabilización de determinados elementos traza se muestra como una tecnología de restauración de suelos ampliamente prometedor; la adición de complejantes en combinación con una revegetación del terreno podría resultar muy efectiva en la estabilización del Pb (Chaney y Ryan, 1994; Berti y Cunningham, 1997). Así, p. ej., se ha visto que el crecimiento de *Agrostis capillaris* L. 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 aún son desconocidos (Cotter-Howells y Caporn, 1996). Por su parte, la reducción en las raíces más profundas de Cr⁶⁺ a Cr³⁺, 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 Cr⁶⁺ a Cr³⁺ se ha detectado también en especies arbóreas (Cotter-Howells *et al.*, 1994; James, 2001).

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 (Geebelen *et al.*, 2003; Lepp y Dickinson, 2003; Mench *et al.*, 2006a; 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*, así como por

Turpeinen *et al.* (2000), que mostraron como la solubilidad de Pb se redujo por encima del 93% por el efecto de plántulas de pino.

Las plantas formadoras de pastos se cuentan entre las más adecuadas para la fitocorrección de formas orgánicas e inorgánicas de metales, debido a su forma de crecimiento y adaptabilidad a una gran diversidad de condiciones edáficas y climáticas (Sinha *et al.*, 2002). Entre los miembros de la familia Asteráceas se ha reportado, p. ej., tolerancia al Pb en *Sonchus oleraceus* L. (Chaudhry *et al.*, 1998), la cual ha sido propuesta como especie fitorremediadora de ambientes contaminados con este metal. La brassicácea *Thlaspi caerulescens* J. Presl & C. Presl en suelos contaminados con Zn y Cd logra eliminar más de 8 mg/kg de Cd y 200 mg/kg de Zn, representando estos valores el 43% y 7% de estos metales en un suelo agrícola, respectivamente (McGrath *et al.*, 2001, 2002, 2003). El girasol (*Helianthus annuus* L.) es la especie que absorbe los metales pesados en mayor cantidad, acumulándose más en sus raíces que en sus brotes, por lo que se considera una planta hiperacumuladora favorable en la fitoextracción de Cd, Pb y Zn y elementos radiactivos (Li y Christie, 2001).

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 (Wong, 2003; Rizzi *et al.*, 2004; Prasad, 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 (Remona *et al.*, 2005; Conesa *et al.*, 2006; Frérot *et al.*, 2006).

1.4. BIBLIOGRAFÍA

- 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.

- Alloway, B.J., 1997. The Mobilization of Trace Elements in Soils. En: Prost, R (ed.). Contaminated Soils: 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, Paris (France), May 15-10 1995, pp. 133–145. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris.
- Barceló, J., Poschenrieder, C., 1997. Chromium in Plants. En: Canali, S., Tittarelli, F., Sequi P. (eds.), Chromium Environmental Issues, pp. 101–129. FrancoAngeli, Italy.
- Basta, N.T., Pantone, D.J., Tabatabai, M.A., 1993. Path analysis of heavy metal adsorption by soil. *Agronomy Journal*, 85, 1054-1057.
- Berti, W.R., Cunningham, S.D., 1997. In-place inactivation of Pb in Pb-contaminated soils. *Environmental Science & Technology*, 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*, pp. 71–88. John Wiley & Son Inc., New York.
- 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 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.
- Bradshaw, A., 2000. The use of natural processes in reclamation — advantages and difficulties. *Landscape and Urban Planning*, 51, 89–100.
- 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.
- Brady, N.C., Weil, R.R., 2002. *The Nature and Properties of Soils*. 13th Edition. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ.

- Brooks, R.R., 1998. Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals, their Role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining. CAB International, Wallingford, UK.
- 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.
- Cala, V., Kuimine, Y., 2003. Distribución de plomo en suelos contaminados en el entorno de una planta de reciclaje de baterías ácidas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 19(3), 109–115.
- Campbell, P., 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.
- Cañizares-Villanueva, R.O., 2000. Biosorción de metales pesados mediante el uso de biomasa microbiana. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 42, 131–143.
- 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), 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.
- Chaudhry, T.N., Hayes, W.J., Kham, A.G., Kho, C.S., 1998. Phytoremediation – Focusing on accumulator plants that remediate metal-contaminated soils. *Australasian Journal of Ecotoxicology*, 4, 37-51.
- 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.

- Cotter-Howells, J.D., Caporn, S., 1996. Remediation of contaminated land by formation of heavy metal phosphates of outstanding interest. *Applied Geochemistry*, 11, 335–342.
- Cotter-Howells, J.D., Champness, P.E., Charnock, J.M., Patrick, R.A.D., 1994. Identification of pyromorphite in mine-waste contaminated soils by Aem and Exafs. *European Journal of Soil Science*, 45, 393–402.
- Chaney, L.R., Ryan, J.A., 1994. Risk Based Standards for Arsenic, Lead and Cadmium in Urban Soils. Dechema, Frankfurt.
- 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., Broadhurst, C.L., Peters, C.A., Tappero, R.V., Sparks, D.L., 2007. Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *Journal of Environmental Quality*, 36, 1429–1443.
- Chen, L., Luo, S., Li, X., Wan, Y., Chen, J., Liu, C., 2014. Interaction of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake. *Soil Biology and Biochemistry*, 68, 300–308.
- Cunningham, S.D., Ow, D.W., 1996. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology*, 110(3), 715–719.
- 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.
- Cunningham, S.D., Berti, W.R., Huang, J.W., 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, S.D., Shann, J.R., Crowley, D.E., Anderson, T.A., 1997. Phytoremediation of contaminated water and soil. *Journal of Environmental Quality*, 28, 760–766.

- Dickinson, N.M., Pulford, I.D., 2005. Cadmium phytoextraction using short-rotation coppice *Salix*: the evidence trail. *Environment International*, 31, 609–613.
- Dickinson, N.M., Baker, A.J., Doronila, A., Laidlaw, S., Reeves, R.D., 2009. Phytoremediation of inorganics: realism and synergies. *International Journal of Phytoremediation*, 11(2), 97–114.
- Domínguez, M.T., 2009. Elementos traza en el sistema planta-suelo: implicaciones para la ecología de especies leñosas y la restauración de zonas degradadas. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- Duffus, J.H., 2002. Heavy metals a meaningless term (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74(5), 793–807.
- 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 and Technology*, 29, 1239–1245.
- 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.
- 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.
- Essington, M.E., 2004. *Soil and water chemistry: An integrative approach*. CRC Press, Boca Ratón.
- Evans, L.J., Spiers, G.A., Zhao, G., 1995. Chemical aspects of heavy metal solubility with reference to sewage sludge amended soils. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 59, 291–302.
- Facchinelli, A., Sacchi, E., Mallen, L., 2001. Multivariate statistical and GIS-based approach to identify heavy metal sources in soils. *Environmental pollution*, 114(3), 313–324.
- Fernandes, J.C., Henriques, F.S., 1991. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants, *The Botanical Review*, 57, 246–273.

- Fernández, J.A., Maldonado, J.M., 2000. Absorción y transporte de nutrientes minerales. En: Azcón-Bieto, J., Talón, M. (eds.), *Fundamentos de Fisiología Vegetal*, pp. 99-112. Editorial Interamericana-McGraw Hill, Madrid.
- Fitz, W.J., Wenzel, W.W., Zhang, H., Nurmi, J., Štípek, 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 and Technology*, 37, 5008–5014
- 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., Lefévre, C., Gruber, W., Collin, C., Dos Santos, A., Escarre, J., 2006. Specific interactions between local metallophilous plants improve the phytostabilization of mine soils. *Plant and Soil*, 282, 53–65.
- Gadde, R.R., Laitinen, H.A., 1974. Studies of heavy metal adsorption by hydrous iron and manganese oxides. *Analytical Chemistry*, 46, 2022–2026.
- García, G., Zanuzzi, A.L., Faz, Á., 2005. Evaluation of heavy metal availability prior to an in situ soil phytoremediation program. *Biodegradation*, 16, 187–194.
- García I., Dorronsoro C., 2005. Contaminación por metales pesados. En: *tecnología de Suelos*. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola, Granada.
- Gardea-Torresdey, J.L., Peralta-Videa, J.R., De La Rosa, G., Parsons, J.G., 2005. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. *Coordination Chemistry Reviews*, 249, 1797–1810.
- 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.
- 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.

- 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.
- He, Z.L., Zhou, Q.X., Xie, Z.M., 1998. Chemical equilibrium of beneficial and pollution elements in soil. Chinese Environmental Science Press, Beijing.
- Jadia, C.D., Fulekar, M.H., 2009. Phytoremediation of heavy metals: recent techniques. *African Journal of Biotechnology*, 8, 921–928.
- James, B.R., 1996. The challenge of remediating chromium-contaminated soil, *Environmental Science & Technology*, 30, 248–251.
- James, B., 2001. Chemical transformation of chromium in soils: Relevance to mobility, bioavailability, and remediation. *Chromium File Paper*, 8, 1–8.
- 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.
- Kabata-Pendias, A., 1995. Agricultural problems related to excessive trace metal contents of soils. En: Salomons, W. Förstner U., Mader, P. (eds.), *Heavy Metals*, pp. 3–18. Springer-Verlag, Berlin,
- Kabata-Pendias, A., 2010. Trace elements in soils and plants. Fourth edition CRC Press, Boca Ratón.
- Kabata-Pendias, A., Pendias H., 1992. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press Inc., Boca Ratón.
- Krauskopf, K.B., 1967. Introduction to Geochemistry. McGraw-Hill, New York.
- Kalin, M., 2002. Pollution control – wetlands and ecological engineering. Proceedings of the American Ecological Engineering Society annual meeting. University of Vermont, Burlington, April 28–30.
- Kaasalainen, M., Yli-Halla, M., 2003. Use of sequential extraction to assess metal partitioning in soils. *Environmental Pollution*, 126, 225–233.
- 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.

- 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 & Technology*, 29, 1232–1238.
- La Moncloa, Gobierno de España, 2005. Referencia del Consejo de Ministros, Viernes 14 de enero de 2005. Fijadas las actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios para su declaración. Disponible en: <http://www.lamoncloa.gob.es/consejodeminstros/referencias/Paginas/2005/c1401050.aspx>. Accedido el 28/03/2017.
- 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. Disponible en: la web: http://www.plantstress.com/articles/toxicity_m/phytoremed.pdf. Accedido el 25/8/2014.
- 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.
- LeDuc, D.L., Terry, N., 2005. Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(11-12), 514–520.
- 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 (First Edition)*, pp. 261–299. Elsevier, New York.
- 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.
- 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.

- Lloyd, J.R., Macaskie, L.E. 2000. Bioremediation of radioactive metals. En: Lovley, D.R. (ed.), Environmental microbe-metal interactions, pp. 277–327. ASM Press, Washington DC.
- 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.
- Manousaki, E., Kadukova, J., Kalogerakis N., 2008. Phytoextraction and phytoexcretion of Cd and Pb by the salt cedar (*Tamarix smyrensis* Bunge): a new combined phytoremediation process. COST Action 859—Phytotechnologies in practice—biomass production, agricultural methods, legacy, legal and economic aspects October 14–17, Verneuil-en-Halatte, France.
- Marmioli, M., Antonioli, G., Maestria, E., Marmioli, N., 2005. Evidence of the involvement of plant lignocellulosic structure in the sequestration of Pb: an X-ray spectroscopy-based analysis. Environmental Pollution, 134, 217–227.
- McBride, M.B., 1994. Environmental chemistry of soils. Oxford Univ. Press, New York.
- 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.
- Mench, M., Lepp, N., Bert, V., Schwitzguébel, J.-P., Gawronski, S.W., Schröder, P., Vangronsveld, J., 2010. Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: outcomes, assessment and outlook from COST Action 859. Journal of Soils and Sediments, 10, 1039–1070.
- McGrath, S.P., Zhao, F.J., 2003. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. Current Opinion in Biotechnology, 14, 277–282.

- 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, 1v56.
- Mitchell, R.L., 1964. Trace Elements in Soils and Factors that affect their availability. En: Bear, F.E. (ed.), *Chemistry of the Soil*, 2nd edition, pp. 320–268. Reinhold, New York.
- Navarro-Aviñó, J.P., Aguilar, I., López-Moya, J.R., 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*, 16, 10–25.
- Navas, A., Lindhorfer, H., 2003. Geochemical speciation of heavy metals in semiarid soils of the central Ebro Valley (Spain). *Environment International*, 29, 61–68.
- 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.
- Novotny, V. 1995. Diffuse sources of pollution by toxic metals and impact on receiving waters. En: Salomons, W., Förstner, U., Mader, P. (eds.), *Heavy Metals*, pp. 33–52. Springer-Verlag, Berlin.
- Ortiz Bernad, I., Sanz García, J., Dorado Valiño M., Villar Fernández, S., 2006. Técnicas de recuperación de suelos contaminados. Informe de vigilancia tecnológica. Colección vt 6. Universidad de Alcalá, Dirección General de Universidades e Investigación, Fundación para el conocimiento madri+d, Madrid.
- Parker, D.R., Pedler, J.F., 1997. Revaluating the free-ion activity model of trace metal availability to higher plants. *Plant and Soil*, 196, 223–228.

- Peer, W.A., Baxter, I.R., Richards, E.L., Freeman, J.L., Murphy, A.S., 2006. Phytoremediation and hyperaccumulator plants. En: Tamás, M.J., Martinoia, E. (eds.), *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification. From Microbes to Man. Topics in Current Genetics*, 14, pp. 299–340. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
- 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.
- Phipps, D.A., 1981. Chemistry and biochemistry of trace metals in biological systems. En: Lepp, N.W. (ed.), *Effect of Heavy Pollution on Plants*, pp. 1–54. Applied Science Publishers, London.
- Pickering, W.P., 1986. Metal ion speciation — soils and sediments (a review). *Ore Geology Reviews*, 1, 83–146.
- Pilon-Smits, E., 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 15–39.
- 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.
- Plant, J., Smith, D., Smith, B., Williams, L., 2001. Environmental geochemistry at the global scale. *Applied Geochemistry*, 16, 1291–1308.
- Prasad, M.N.V., 2006. Stabilization, remediation and integrated management of metal contaminated ecosystems by grasses (Poaceae). En: Prasad, M.N.V., Sajwan, K.S., Naidu, R. (eds.), *Trace elements in the environment, Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation*, pp. 405–424. CRC Press, Boca Raton.
- Prasad, M.N.V., Freitas, H.M.O., 2003. Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology* 6(3), 285-321.
- Pulford, I.D., Watson, C., 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review. *Environment International*, 29, 529– 40.

- Raskin, I., 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science and Technology*, 29(5), 1232–1238.
- Raskin, I., Smith, R., Salt, D.E., 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current Opinion in Biotechnology* 8(2): 221–226.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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., 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.
- 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.
- 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.

- Rulkens, W.H., Grotenhuis, J.T.C., Tichy, R. 1995. Methods for cleaning contaminated soils and sediments. En: Salomons, W., Förstner, U., Mader, & P. (eds.), *Heavy Metals*, pp. 165–191. Springer-Verlag, Berlin.
- Salt, D.E., Prince, R.C., Pickering, I.J., 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian mustard. *Plant Physiology*, 109, 1427–1433.
- Saxena, P.K., Raj, S.K., Dan, T., Perras, M.R., Vettakkorumakankav, N.N., 1999. Phytoremediation of heavy metal contaminated and polluted soils. En: Prasad, M.N.V., Hagemayr, J. (eds.), *Heavy Metal Stress in Plants, From Molecules to Ecosystems*, pp 305–329, Springer Verlag, Berlin.
- 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*, Bhopal, M.P. India.
- Sharma, P.D., 2005. *Ecology and environment*. Rastogi Publications, Meerut, New Delhi.
- Shuman, L.M., 1991. Chemical forms of micronutrients in soils. En: Lluxmoore, R.J. (ed.), *Micronutrients in agriculture*, pp. 114–44. SSSA Inc.. Madison, WI.
- 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.
- 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.
- Stanley, J., 2002. Rehabilitation of mines and other disturbed sites. Disponible en: <http://www.hortresearch.co.nz/products/bioremediation/rehab>. Accedido el 22/8/2014.
- 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. International Peat Society, Quebec.

- 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 from aquifers using trees. En: Vidic, R.D., Pohland, F.G. (eds.), Innovative technologies for site remediation and Hazardous waste management, pp. 605-612. Proceedings of the national conference Environmental engineering division, American Society of Civil Engineers, held in Pittsburgh, Pennsylvania, July 26.
- Stumm, W., Morgan, J.J., 1981. Aquatic Chemistry. Wiley, New York.
- Tiller, K.G., 1989. Heavy metals in soils and their environmental significance. *Advances in soil Science*, 9, 113–141.
- 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.
- Turpeinen, R., Salminen, J., Kairesalo, T., 2000. Mobility and bioavailability of lead in contaminated boreal forest soil. *Environmental Science & Technology*, 34, 5152-5156.
- USEPA, 1986. Organic analytes. En: Test methods for evaluating solid wastes. 3rd ed. Document SW-846, pp. 1–16. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington DC.
- USEPA, 1998. Final draft: Introduction to phytoremediation. National Risk Management Research Laboratory Cincinnati, Ohio.
- USEPA, 2000. Introduction to Phytoremediation, EPA/600/R-99/107. Boston, Massachusetts, U.S.A.
- Vangronsveld, J., Cunningham, S.D., 1998. Metal-Contaminated Soils: in situ Inactivation and Phytoremediation. R.G. Landes Company, Georgetown, Texas.
- 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.), Proceedings of the International Conference Heavy Metals in the Environment, pp. 58-61. CEP Consultants, Edinburgh.

- Vandenhove, H., Bousher, A., Jensen, P.H., Jackson, D., Lambers, B., Zeevaert, T., 1999. 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 Project Final Report prepared for European Commission DG XI Environment, Nuclear Safety and Civil Protection under contract 96-ET-006. Disponible en: <https://ec.europa.eu/energy/sites/ener/files/documents/115.pdf>. Accedi-do el 26/6/2014.
- Vaughan, D., Lumsdon, D.G., Linehan, D.J., 1993. Influence of dissolved organic matter on the bioavailability and toxicity of metals in soils and aquatic systems. *Chemistry and Ecology*, 8, 185–201.
- Wenzel, W.W., 2009. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant Soil*, 321, 385–408.
- Wong, M.H., 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50, 775–780.
- Xunta de Galicia, 1995. Plan de Xestión de Residuos Perigosos e Solos Contaminados de Galicia. Consellería de Industria e Comercio da Xunta.
- 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.

**CAPÍTULO 2. DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y
EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR
PLOMO EN LOS SUELOS DE LA ZONA DE
HAINA, REPÚBLICA DOMINICANA**

2.1. INTRODUCCIÓN

El suelo sirve para muchas funciones vitales del ecosistema y es un recurso fundamental para la supervivencia y el desarrollo humano (Wong *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2008). Por lo tanto, es fundamental protegerlo de la contaminación y asegurar su sostenibilidad (Nriagu, 1988; Alloway, 1995). En los últimos años, la contaminación del suelo ha sido aceptada como un importante problema ambiental tanto en los países desarrollados, como en los países en desarrollo, principalmente a causa de sus efectos sobre los cambios en los patrones de uso de la tierra (Andreu y Boluda, 1995; Chen *et al.*, 2009).

Entre los numerosos contaminantes del suelo, los elementos traza, y en particular los metales pesados, resultan especialmente peligrosos debido a su alta toxicidad y persistencia en el medio ambiente; se considera que hay dos fuentes principales de contaminación por estos elementos traza; una la constituyen los aportes naturales o geológicos, incluyendo la erosión de las rocas y aguas termales y la otra la constituyen las fuentes antropogénicas, incluyendo las industrias asociadas a la minería metalífera y otras industrias químicas y pesadas, las emisiones de los vehículos y las prácticas agronómicas (Zhang *et al.*, 1999; Gallego *et al.*, 2002, Micó *et al.*, 2006; Rodríguez Martín *et al.*, 2007). Una gran proporción de concentraciones tóxicas de elementos traza se introduce a través de las prácticas agrícolas, tales como la fertilización orgánica y mineral, la aplicación de pesticidas y el agua de riego (Romic y Romic, 2003; Rodríguez Martín *et al.*, 2007). Los elementos pueden ser transferidos desde el suelo a otros compartimentos del ecosistema, como las aguas subterráneas y los cultivos, por lo tanto, pueden afectar a la salud humana al contaminar el suministro de agua y la cadena alimentaria (Sanchez-Camazano *et al.*, 1998; De Temmerman *et al.*, 2003).

Muchos elementos traza, la mayoría de ellos metales pesados, resultan ser contaminantes altamente tóxicos, no degradables y bioacumulativos y han sido ampliamente estudiados en los suelos urbanos y agrícolas debido a su ubicuidad, toxicidad y persistencia (Lim *et al.*, 2008). Se sabe que estos elementos se pueden transferir fácilmente al cuerpo humano como consecuencia de la absorción dérmica, inhalación e ingestión por contacto, y acaban acumulándose debido a su naturaleza no biodegradable (Ferreira-Baptista y De Miguel, 2005; Lim *et al.*, 2008). Aunque algunos metales pesados como el Zn y el Cu son elementos esenciales para las plantas y los seres humanos como componentes catalíticos de proteínas y enzimas, la gran mayoría de ellos no tiene ninguna

función fisiológica beneficiosa y su exceso de acumulación en el cuerpo humano puede conducir a muchas enfermedades (Ljung *et al.*, 2006). Así, se ha constatado que los metales y metaloides presentes en los suelos agrícolas y urbanos pueden tener efectos tóxicos sobre la salud humana (De Miguel *et al.*, 1998; Ahmed e Ishiga, 2006), especialmente en los niños (Li *et al.*, 2004; Ljung *et al.*, 2006; Poggio *et al.*, 2009). Por ejemplo, la exposición a niveles moderados de Pb puede ser perjudicial para las enzimas involucradas en la producción de sangre, mientras que un alto nivel de exposición al Pb puede incluso afectar la inteligencia humana (De Miguel *et al.*, 2007; Babula *et al.*, 2008); asimismo, Li *et al.*, (2004) pusieron de manifiesto que el Pb puede dañar el sistema nervioso central, los riñones y el sistema sanguíneo. También la acumulación de Cd en el cuerpo humano puede conducir a daños renales, óseos y pulmonares (Ljung *et al.*, 2006). La dieta es la principal ruta de exposición a metales pesados para la mayoría de la gente, salvo para aquellos trabajadores que desarrollan su actividad en industrias relacionadas con los metales (minería, fundiciones, etc.) (Sharma *et al.*, 2008). Hay muchos casos famosos de envenenamientos masivos por metales pesados a través de la cadena alimentaria, como son los de las enfermedades "Itai-Itai" y "mina-mata" que se produjeron en Japón en la década de 1930 y 1950 respectivamente (Sharma *et al.*, 2008).

El estudio de la concentración, la distribución espacial y la identificación de las fuentes de contaminación de los suelos resulta muy importante con el fin de identificar las áreas de contaminación y evaluar las fuentes potenciales de contaminantes (Li y Feng, 2012). Por lo general, la identificación de las fuentes de contaminantes se lleva a cabo con la ayuda de los análisis estadísticos multivalentes, como el análisis de correlación, el análisis factorial, etc. (Einax *et al.*, 1997; Tahri *et al.*, 2005; Han *et al.*, 2006; Luo *et al.*, 2007; Li y Feng, 2012).

Los métodos tradicionales para la evaluación de los riesgos asociados a la contaminación por elementos traza de los suelos se han basado en varios índices de contaminación, tales como el índice del Factor de Contaminación (FC), el Índice de Carga de Contaminación (ICC), el índice de Síntesis de Nemerow, etc., los cuales se basan en la relación relativa de la concentración real entre cada elemento en una muestra de suelo respecto de un valor de referencia (estándar de calidad del suelo o concentración de fondo de ese elemento traza) (Chen *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2010). Todos estos índices, considerados como factores de enriquecimiento, también se utilizan para caracterizar la contaminación por elementos traza en los suelos mediante el cálculo del grado de enriquecimiento para un elemento (Desaules, 2012). Debido a la alta variabilidad espacial

de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo que resultan del rápido e impredecible cambio de uso de la tierra, los enfoques tradicionales para evaluar este riesgo de los suelos deberían ser modificados cuando la investigación se refiera a suelos industriales y urbanos (Luo *et al.*, 2012). Así, p. ej., los alimentos y las verduras son por lo general las principales vías de exposición a los metales pesados en los suelos agrícolas para el cuerpo humano, debido a la alta bioacumulación de algunos elementos tóxicos en los cultivos (Huang *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2012). Sin embargo, en el caso de los suelos industriales y urbanos, muchos estudios han demostrado que la ingestión oral directa de las partículas del suelo juega un papel importante en la exposición de los humanos a los metales pesados en los suelos (Zheng *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2011).

En este sentido, son muchos los índices de contaminación ambiental que se utilizan normalmente para evaluar el enriquecimiento de elementos traza y para describir la calidad del suelo en el entorno (Muller, 1969; Hakanson, 1980; Tomlinson *et al.*, 1980; Nishida *et al.*, 1982; Din, 1992; Jung, 2001; Shin y Lam, 2001; Praveena *et al.*, 2007; Abraham y Parker, 2008). A su vez, estos índices de contaminación también son herramientas poderosas para distinguir la fuente u origen de la contaminación de estos elementos traza (Caiero *et al.*, 2005). Muchos estudios utilizan índices que cuantifican el nivel de contaminación con respecto a los valores de fondo de los elementos investigados en el suelo o en los tejidos de plantas de zonas no contaminadas. Tales estudios pueden proporcionar una estimación objetiva de la situación del medio ambiente en un área determinada. Para cuantificar el grado de enriquecimiento metálico o de la contaminación de los suelos, se han propuesto muchos índices y métodos de cálculo. Entre ellos, el índice de contaminación (PI) y el índice integrado de la contaminación (IPI) se utilizan comúnmente para evaluar la calidad del medio ambiente (Lu *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2010; Bentum *et al.*, 2011; Yaylali-Abanuz *et al.*, 2011; Taghipour *et al.*, 2013).

La contaminación por elementos traza de los suelos es de un gran interés para muchos investigadores debido a la potencial toxicidad que presentan muchos metales y metaloides (Smith *et al.*, 1998; Homa *et al.*, 2003; Aelion *et al.*, 2008). Las actividades antropogénicas relacionadas con la urbanización y la industrialización son fuentes importantes de metales pesados y contaminantes orgánicos en suelos (Stafilov *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2011, 2012). Así, las fundiciones, las plantas de galvanización y las plantas de fabricación de baterías son las principales actividades industriales que producen grandes cantidades de metales pesados (Foucault *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2013). Además, hay que tener en cuenta que los metales pesados pueden ser transportados largas distancias con las

partículas de la atmósfera, el arrastre eólico y la erosión hídrica, tras su liberación en el medio ambiente, lo que puede ampliar la zona afectada por la contaminación por metales (Wu *et al.*, 2010). La contaminación edáfica por elementos traza también puede ser causada por el riego con aguas residuales, la eliminación de residuos sólidos, las emisiones de los vehículos, la fertilización, la minería, etc. (Cheng, 2003; Khan *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2011, 2012). Así, una parte de estos metales arrastrados pueden ser transferidos a los suelos en zonas más o menos alejadas (Lu *et al.*, 2010), que acaban por ser afectados por estos procesos de contaminación. Por lo tanto, los suelos, especialmente aquellos en las proximidades de las zonas industriales, acaban por ser importantes sumideros de metales pesados y metaloides, entre otros contaminantes (Xu *et al.*, 2013).

En algunos países, debido al rápido desarrollo industrial que han experimentado durante las últimas décadas, la contaminación por metales pesados del suelo se ha vuelto cada vez más grave. Un ejemplo de ello es el caso de la producción de baterías de Pb ácido, que constituye una de las principales fuentes de contaminación por metales pesados (Cheng, 2003). A este respecto, hay que indicar que en Haina, la actividad de la planta de reciclaje de baterías para automotores “Metaloxa”, basada en el reciclaje de baterías de Pb ácido fue muy alta durante varias décadas pasadas, lo que ha podido causar una importante contaminación de metales pesados en los suelos y los ecosistemas cercanos a la fábrica; en concreto, durante los 20 años de operaciones sin controles ambientales, se liberaron ingentes cantidades de Pb despedidas por las calderas, que iban a parar a la atmósfera y posteriormente eran depositadas en los suelos circundantes; aunque la actividad de esta factoría cesó en 1999 por la intervención del Ministerio de Salud Pública de la República Dominicana, quedaron secuelas imborrables en la población y en los ecosistemas de la zona (Blacksmith Institute, 2010, 2014; McCartor y Becker, 2010; El Nacional, 2013).

Como zona industrial que es, el entorno de la ciudad de Haina ha estado expuesto a una importante contaminación de sus suelos desde hace varias décadas. Haina es una ciudad con un gran desarrollo industrial, en la que se albergan más de un centenar de industrias de manufacturas, químicas, de productos farmacéuticos, de artículos metalúrgicos, además de otras generadoras de electricidad, así como la Refinería Dominicana de Petróleo. Según diversos estudios, esta constelación de empresas que fueron instaladas sin observar reglas ambientales y en donde operó la planta de reciclaje de baterías de automóviles antes mencionada, fue la responsable de que Haina esté catalogada como una de las diez localidades más contaminadas del mundo, según el Instituto

Blacksmith, con sede en Nueva York (Blacksmith Institute, 2010, 2014; McCartor y Becker, 2010).

Hasta el momento, se han llevado a cabo algunos estudios previos de las concentraciones de metales traza en suelos de la zona urbana de la ciudad de Haina, sin embargo, las concentraciones y los patrones de distribución espacial de los elementos traza en los suelos de dicha ciudad y su entorno siguen siendo desconocidos. Puesto que en la República Dominicana existe un bajo nivel de información sobre la calidad ambiental, resulta básico el llevar a cabo una evaluación de las fuentes y niveles de contaminación que afectan a los suelos y ecosistemas de la zona. Por lo tanto, el principal objetivo de este estudio fue investigar el contenido y la distribución espacial de los metales pesados en estos suelos, especialmente del Pb, con la finalidad de evaluar sus niveles de contaminación por elementos traza.

2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.2.1. ZONA DE ESTUDIO

La ciudad de Haina (18°25'N, 70°02'O), perteneciente a la provincia de San Cristóbal, está ubicada al sur de Santo Domingo (Figura 2.1). Cubre un área de 38,49 km² y tiene alrededor de 100.000 habitantes (Oficina Nacional de Estadística, 2008). Su clima es tropical, con lluvias frecuentes; tiene una temperatura media anual de 26,0 °C y una precipitación media anual de 1.542,2 mm (Servicio Geológico Nacional, 2004). El municipio de Haina se compone de dos secciones rurales, La Pared y El Carril y cinco parajes.

Se trata del centro industrial y portuario más importante de la República Dominicana, en donde se produce más del 50% de la electricidad de la que dispone el país; también se encuentra allí su única refinería y el puerto más importante, que en 2002 registró operaciones de mercancías de 10,4 millones de t, alrededor del 65% del movimiento total de la República Dominicana (McCartor y Becker, 2010). El total de contaminantes emanados cada año por el complejo industrial es de 15.819 t. Al mismo tiempo, el conjunto de plantas y fábricas emite al suelo unas 74,2 t de Pb, unas 91,3 t de Cu, y unas 412 t de ácido sulfúrico; a este respecto, la mayor amenaza para el ambiente y la salud de los seres humanos son los metales pesados, generados principalmente por los sectores de fabricación de aparatos eléctricos y electrónicos; por su parte, al agua se vierten

anualmente unas 33,9 t de ácido sulfúrico, 29,6 t de ácido fosfórico, 4,5 t de cloro y 10,2 t de amonio (McCartor y Becker, 2010). Los mismos autores indican que a las ingentes cantidades de sustancias peligrosas generadas cada año por las industrias, hay que sumar los desechos urbanos e industriales, ya que en la ciudad de Haina se producen alrededor de 85 t diarias de basura, que es arrojada en un vertedero a cielo abierto.



Figura 2.1. Mapa de la Isla La Española en la que se muestra la situación de la República Dominicana y su capital Santo Domingo. En el mapa inferior se indica la situación de la ciudad de Haina en la provincia de San Cristóbal, al sur de Santo Domingo (Fuente mapa superior: http://www.educando.edu.do/Userfiles/P0001/File/01_dominicanayhaitialtares_educando.jpg; mapa inferior: propia).

2.2.2. MUESTRAS DE SUELO

Las muestras de suelo se obtuvieron en el entorno de la ubicación original de la antigua fábrica de baterías de vehículos localizada a 20 km al este de la ciudad de Haina, en el paraje de Paraíso de Dios.

Tras analizar la orografía, las zonas con vegetación, las que estaban libres de casas, así como el material geológico, se seleccionaron 11 zonas de estudio. El criterio principal utilizado para su elección fue formar una malla alrededor del foco de contaminación, la cual estaría compuesta por tres bandas de unos 300 m de longitud cada una, dispuestas de forma paralela, y distantes unos 200 m entre sí. En cada banda se eligieron tres puntos de muestreo aproximadamente equidistantes. Finalmente, las características de la zona hicieron que se tuviera que cambiar la orientación de alguna banda y el emplazamiento de algunas zonas y quedaran dispuestas tal como aparecen en la Figura 2.2. De forma que la banda 1 se trazó a la altura de la fábrica de baterías y constó de las zonas 1A, 1B (coincidiendo con la fábrica) y 1C (Figuras 2.3, 2.4 y 2.5); la banda 2 se trazó al norte de la anterior y estuvo constituida por las zonas 2A, 2B y 2C (ésta última quedó claramente desplazada respecto al diseño original debido a que los habitantes de la zona habían ocupado todos los espacios donde el suelo podía ser muestreado) (Figuras 2.6, 2.7 y 2.8); la banda 3, trazada al sureste de la banda 1, estuvo compuesta de los puntos 3A, 3B y 3C (Figuras 2.9, 2.10 y 2.11).

Además de estos nueve puntos, se eligió también una zona fuera de la malla, alejada unos 100 m de la banda 3 y situada cerca del mar (zona 4, Figura 2.12); y por último una zona de control (zona 0) a unos 1.200 m al noroeste de la fábrica y situada en una zona considerada *a priori* libre de la influencia de contaminación (Figura 2.13), con la finalidad de utilizar sus valores como normales para los suelos y las plantas de la zona. Las coordenadas geográficas de las zonas estudiadas se registraron mediante un GPS Modelo Garmin, serie eTrex Venture HC (Tabla 2.1).

El sustrato de las zonas estudiadas está formado fundamentalmente por rocas de naturaleza sedimentaria de la era Cenozoica, Sistema Neógeno y de la era del Cuaternario, Series Plioceno al Pleistoceno (Cendrero, 1996).

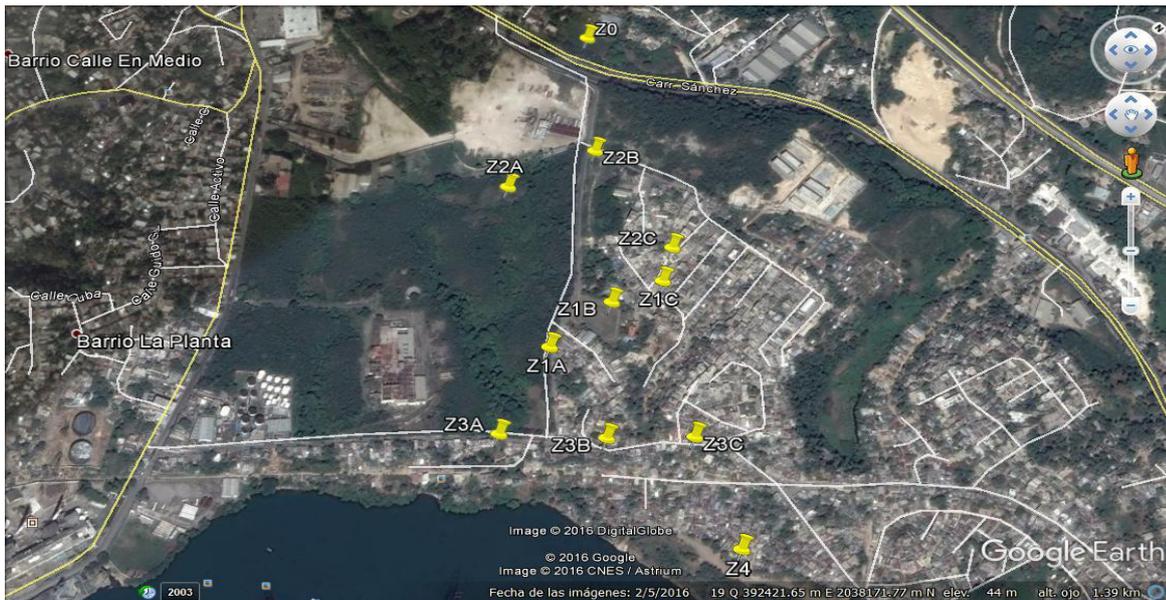


Figura 2.2. Zonas estudiadas situadas el entorno de la ubicación original de una antigua fábrica de baterías de vehículos localizada a 20 km al este de la ciudad de Haina, en el paraje de Paraíso de Dios (Datos del mapa ©2016 DigitalGlobe).



Figura 2.3. Zona de muestreo 1A: situada en una zona industrial (Fuente: propia).



Figura 2.4. Zona de muestreo 1B: instalaciones de la antigua fábrica de baterías convertidas en zona de juegos para niños (Fuente: propia).



Figura 2.5. Zona de muestreo 1C: zona residencial (Fuente: propia).



Figura 2.6. Zona de muestreo 2A: enclavada en un bosque (Fuente: propia).



Figura 2.7. Zona de muestreo 2B: área deshabitada (Fuente: propia).



Figura 2.8. Zona de muestreo 2C: en los alrededores de centro escolar (Fuente: propia).



Figura 2.9. Zona de muestreo 3A: cañada (Fuente: propia).



Figura 2.10. Zona de muestreo 3B: alrededores de zona comercial (Fuente: propia).



Figura 2.11. Zona de muestreo 3C: cercana al río (Fuente: propia).



Figura 2.12. Zona de muestreo 4: próxima a una refinería en las cercanías del puerto de Haina (Fuente: propia).

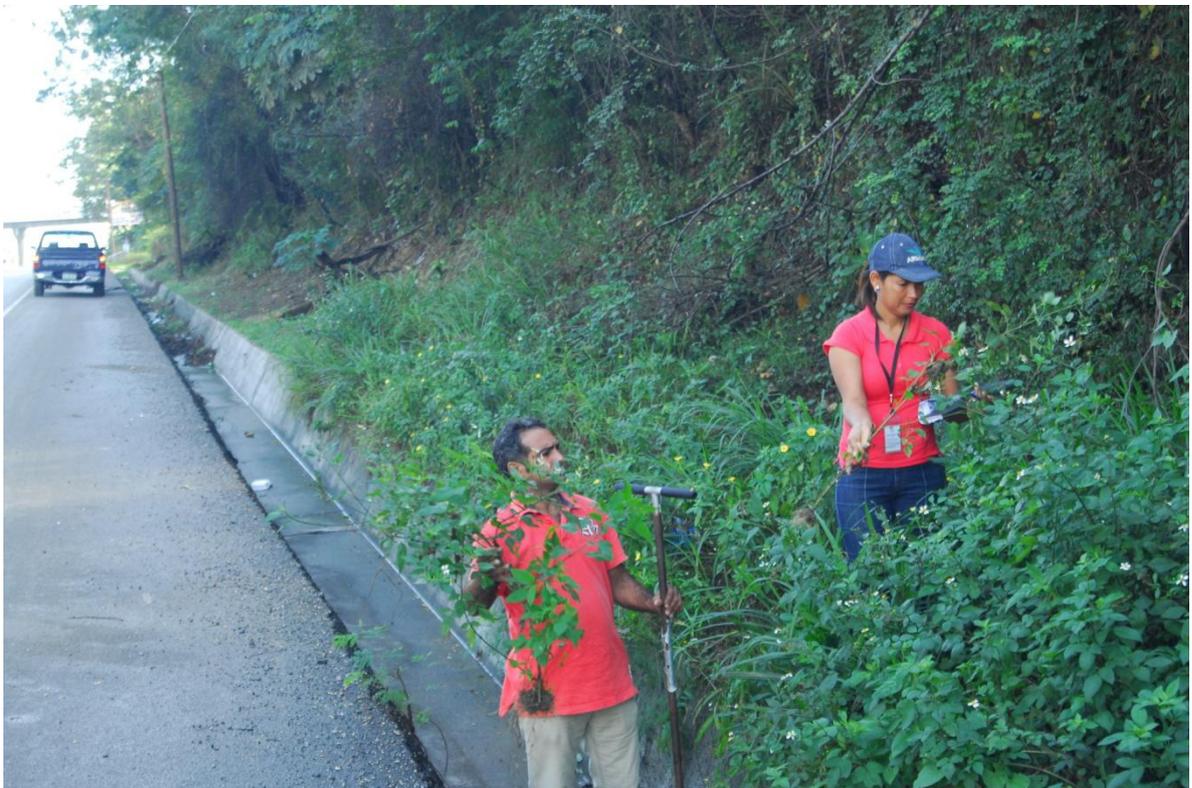


Figura 2.13. Zona de muestreo 0 (control): situada en los límites de las carreteras principales de la zona de Haina (Fuente: propia).

Tabla 2.1. Enumeración y características de las zonas estudiadas (las coordenadas U.T.M. están todas situadas dentro de la cuadrícula 19Q).

| Zonas estudiadas | Coordenadas U.T.M. | Altitud (m s.n.m.) | Características de las zonas |
|------------------|----------------------|--------------------|---|
| Z0 (control) | 0392079E 2038466N | 70 | Límites de las carreteras principales |
| Z1A | 0392446E 2038067N | 49 | Zona industrial |
| Z1B | 0392449E 2038178N | 50 | Instalaciones de la antigua fábrica de baterías |
| Z1C | 0392470E 2038254N | 41 | Zona residencial |
| Z2A | 0392206E 2038201N | 47 | Zona de bosque |
| Z2B | 0392242E 2038334N | 65 | Zona deshabitada |
| Z2C | 0392438E 2038302N | 44 | Zona de centro escolar |
| Z3A | 0392501E 2037927N | 15 | Zona de cañada |
| Z3B | 0392603E 2038029N | 45 | Zona comercial |
| Z3C | 0392681E 2038117N | 37 | Zona cercana al río |
| Z4 | 0392846E 2038047N | 9 | Zona próxima a una refinería |

En un radio aproximado de 50 m alrededor del punto central de cada una de las 11 zonas de estudio se seleccionaron de forma aleatoria seis puntos. Con la ayuda de un muestreador de suelos se tomaron 2 kg de suelo, procedentes de los 20 cm superficiales de cada punto, los cuales fueron almacenados en bolsas de plástico de cierre automático adecuadamente rotuladas. Tras la toma de cada muestra, el muestreador se lavó con agua destilada para evitar contaminación entre los distintos puntos de muestreo. Por tanto se obtuvo un total de 66 muestras de suelo.

Posteriormente, de cada bolsa se extrajeron alícuotas de 100 g de suelo, que fueron utilizadas para los posteriores análisis. Para su pesada se utilizó una balanza de precisión Modelo AR2140.

2.2.3. PROCESADO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE SUELO

Todas las muestras de suelo fueron secadas en bandejas de papel en condiciones ambientales y pasadas por un tamiz de polietileno con una malla de 2 mm de poro para eliminar piedras, materiales gruesos y otros desechos. Una parte de cada muestra fue macerada y homogeneizada con un mortero de ágata y pasada a través de otro tamiz de polietileno de 0,15 mm de poro. Todos los procedimientos de manipulación se llevaron a cabo sin hacer contacto con ningún metal para evitar una posible contaminación cruzada de las muestras y se mantuvieron guardadas para cualquier verificación.

Las muestras de suelo fueron digeridas con ácido nítrico (HNO_3) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) utilizando el Método 3050B de la USEPA (1996). Las concentraciones de Pb en la solución de digestión se determinaron mediante Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA) (Thermo Scientific iCE 3000 Atomic Absorption Spectrometer) en el Laboratorio de Mineralogía del IIBI (República Dominicana). La tolerancia permitida del equipo era de una absorbancia de 0.2 +/- 20% en la solución de chequeo.

Los materiales de referencia estándar, obtenidos del Centro de Materiales Estándar de Referencia Nacional de Estados Unidos, así como las muestras en blanco, se incluyeron en cada lote de análisis de control de calidad (QC) y de Aseguramiento de la calidad (QA). Los resultados se consideraron satisfactorios cuando se situaron dentro de un rango de $\pm 10\%$ de los valores certificados. Todas las muestras se analizaron por duplicado y los resultados se aceptaron cuando la desviación estándar relativa era inferior al 5%.

Los análisis fueron realizados en el laboratorio del Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria (IIBI) de Santo Domingo, República Dominicana.

2.2.4. EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR ELEMENTOS TRAZA

Para evaluar el nivel de contaminación de Pb y otros elementos traza, se calcularon tanto la concentración de estos contaminantes en el substrato, como el Factor de Contaminación (FC) para cada elemento. Este FC se define como la relación entre la concentración de elementos contaminantes en el suelo respecto del valor de fondo de ese elemento en ese suelo (Muller, 1969):

$$FC = C_{\text{suelo}} / C_{\text{fondo}}$$

En donde C_{suelo} (expresada en mg/kg o ppm) es la concentración del elemento traza medida en la muestra y C_{fondo} (también expresada en mg/kg o ppm) es el valor de fondo geoquímico de ese elemento en los suelos de la zona. Los niveles de contaminación fueron clasificados en función de sus intensidades, que van desde 1 hasta 6 (0 = ninguno, 1 = ninguno a medio, 2 = moderado, 3 = moderado a fuerte, 4 = muy contaminado, 5 = fuerte a muy fuerte, 6 = muy fuerte) (Muller, 1969).

En este estudio, al no disponerse de los valores geoquímicos de fondo de los suelos del área de Haina, éstos se estimaron a partir de los suelos más naturales existentes en esta área, en donde se situó la estación de control de este estudio. Estos valores de fondo se estimaron mediante el establecimiento de los llamados Valores de Referencia (VR). Los mismos se pueden obtener mediante dos métodos (Pérez Sirvent, 2007). El primero sería estableciendo las correlaciones entre arcilla y/o materia orgánica del suelo estándar (no contaminado) y los contenidos en elementos traza. El segundo se obtendría sumando a la media de valores o nivel de fondo, dos veces la desviación típica (S): $VR = x$ (valor medio) + 2S. Este segundo criterio se adopta cuando no hay correlación o ésta no es significativa, y es el que se ha empleado, p. ej., para la determinación de los Niveles Genéricos de Referencia de los suelos de la Región de Murcia (Martínez Sánchez y Pérez Sirvent, 2007). Datos equivalentes, pero mucho más desarrollados de otros países son los “Soil Screening Level” de la USEPA o los “Soil Guideline Values (SGVs)” del Reino Unido.

Por otro lado, para examinar el nivel de la contaminación del suelo de la zona de estudio, de forma global, a través del conjunto de los sitios de muestreo, se ha utilizado el Índice de Carga Contaminante (ICC) que se ha determinado conforme a Bhuiyan *et al.* (2010), como:

$$ICC = (FC_1 \times FC_2 \times FC_3 \times \dots \times FC_n)^{1/n}$$

En donde “n” es el número de muestras consideradas.

El ICC es un medio sencillo y útil para evaluar el nivel global de contaminación por elementos traza. A este respecto, se han definido cuatro niveles de contaminación:

- sin contaminación ($ICC < 1$)
- contaminación moderada ($1 < ICC < 2$)
- contaminación elevada ($2 < ICC < 3$)
- contaminación extremadamente elevada ($3 < ICC$).

En relación a las concentraciones de los elementos estudiados en las muestras de suelo consideradas, las mismas se han representado en mapas geoquímicos de isoconcentración mediante el software de SIG Surfer 8 (Golden Software, Inc., versión 2002). Estos mapas de distribución espacial sirven para identificar las posibles fuentes de elementos traza en áreas afectadas (Li *et al.*, 2004). Para ello, una vez eliminados los outliers, o valores atípicos, se llevó a cabo una interpolación mediante el software de la aplicación utilizando el método del “*kriging*” o krijeado (Li *et al.*, 2004).

2.2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis estadísticos en este estudio se realizaron utilizando el software R (R Development Core Team, 2016). Como medida de la correlación entre las cantidades medidas de los metales se usó el coeficiente de correlación de Spearman (Spearman, 1910) en vez del más usado de Pearson porque la prueba de Spearman es no paramétrica. Puesto que la versión básica de R no calcula los valores de p asociados a la prueba de Spearman usamos el paquete Hmisc (Harrell, 2016) disponible como complemento de R.

2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las propiedades fisicoquímicas del suelo no fueron significativamente diferentes entre las muestras estudiadas. Los valores medios de estos parámetros en el conjunto de los suelos superficiales estudiados, excluyendo la zona control, fueron $8,12 \pm 0,27$ para el pH y $297,45 \pm 165,12$ nS/cm para la conductividad eléctrica (CE) (Tabla 2.2).

Las concentraciones mínimas, máximas y medias de Pb, Zn y Cr en los suelos superficiales de la zona de estudio (exceptuando la zona control), expresadas en partes por millón (ppm) en peso seco, equivalentes a mg/kg, se muestran asimismo en la Tabla 2.2, y

los valores detallados de la concentración media y desviación estándar de los tres metales en cada una de las zonas de muestreo, incluyendo los de la zona control, se presentan en la Tabla 2.3.

Tabla 2.2. Valores de algunas propiedades edáficas (pH y conductividad eléctrica, CE, expresada en nS/cm) y concentraciones mínimas, máximas y medias (ppm en peso seco), desviación estándar (S.D.) de Pb, Zn y Cr (ppm) en los suelos superficiales de Haina (exceptuando la zona control) y valores de fondo.

| | pH | CE | Pb | Zn | Cr |
|----------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Valores mínimos | 7,50 | 21,90 | 5,50 | 2,83 | 10,30 |
| Valores máximos | 8,94 | 881,00 | 2.452,00 | 940,00 | 30,30 |
| Valores medios | 8,12 | 297,45 | 386,54 | 119,20 | 15,67 |
| S.D. | 0,27 | 165,12 | 586,47 | 166,47 | 5,65 |
| Valores de fondo de Haina | - | - | 39,48 | 174,98 | 36,18 |

Tabla 2.3. Concentración media y desviación estándar (ppm en peso seco) de Pb, Zn y Cr en las zonas de muestreo de Haina.

| Zonas estudiadas | Pb | Zn | Cr |
|-------------------------|-------------------|-----------------|--------------|
| Z0 (control) | 16,52 ± 11,24 | 76,32 ± 49,33 | 19,92 ± 8,13 |
| Z1A | 970,50 ± 774,10 | 26,42 ± 11,67 | 17,60 ± 6,78 |
| Z1B | 1.793,67 ± 834,59 | 42,02 ± 29,18 | 19,93 ± 3,26 |
| Z1C | 58,17 ± 49,26 | 128,50 ± 37,44 | 10,65 ± 0,07 |
| Z2A | 512,50 ± 194,56 | 37,60 ± 28,90 | 15,73 ± 4,68 |
| Z2B | 28,27 ± 8,43 | 23,08 ± 15,95 | 9,50 ± 0,71 |
| Z2C | 91,67 ± 49,16 | 79,75 ± 35,41 | 16,50 ± 4,63 |
| Z3A | 225,40 ± 129,89 | 236,20 ± 135,95 | 13,16 ± 3,69 |
| Z3B | 66,67 ± 28,87 | 438,67 ± 336,59 | 12,50 ± 0,71 |
| Z3C | 23,64 ± 6,38 | 361,20 ± 324,70 | 10,25 ± 1,06 |
| Z4 | 31,40 ± 9,81 | 47,85 ± 30,39 | 10,60 ± 0,14 |

Tras aplicar la fórmula de los VR para los suelos de la zona control (Z0), los valores de fondo de Pb, Zn y Cr obtenidos para la zona de Haina fueron 39,48, 174,98 y 36,18 ppm, respectivamente (Tabla 2.2).

Al analizar estos valores de fondo y compararlos con los de otras zonas del mundo (Tabla 2.4), se puede constatar que en el caso del Pb el valor de Haina está por encima de la mayoría de los países considerados (a excepción de Alemania y Holanda), el valor de Zn solamente es superado en Alemania; y por el contrario, en el caso del Cr, el valor de Haina está entre los valores más bajos.

Tabla 2.4. Sumario de los valores de fondo edáficos para Pb, Zn y Cr (ppm) en diversos países (adaptado a partir de Wu *et al.*, 2014).

| País (referencia bibliográfica) | Pb | Zn | Cr |
|---|----------|--------|--------|
| Alemania (Utermann <i>et al.</i> , 2006) | 171 | 225 | 45 |
| Austria (Utermann <i>et al.</i> , 2006) | 28 | 111 | 50 |
| China (CEMS, 1990) | 26 | 74.2 | 61 |
| Corteza continental (Reimann y de Caritat, 1998) | 14,8 | 65 | 126 |
| Corteza continental superior (Reimann y de Caritat, 1998) | 17 | 52 | 35 |
| EE UU (CEMS, 1990) | 19 | 60 | 54 |
| Eslovaquia (Utermann <i>et al.</i> , 2006) | 23 | 85 | 55 |
| Estonia (Utermann <i>et al.</i> , 2006) | 21 | 58 | 30 |
| Holanda (Utermann <i>et al.</i> , 2006) | 42 | 110 | 74 |
| Japón (CEMS, 1990) | 20,4 | 63,8 | 41.3 |
| Jiangxi (China) (He <i>et al.</i> , 2005) | 32,1 | 69,0 | 48.0 |
| Lituania (Utermann <i>et al.</i> , 2006) | 15 | 37 | 23 |
| Media mundial (Reimann y de Caritat, 1998) | 17 | 70 | 80 |
| Reino Unido (CEMS, 1990) | 29,2 | 59,8 | 84 |
| Rumanía (Utermann <i>et al.</i> , 2006) | 38 | 167 | 37 |
| Rango de los valores | 14,8-171 | 37-225 | 23-126 |

Si nos centramos en los valores medios de contaminación encontrados en los suelos estudiados, considerando todas las zonas muestreadas, excepto la de control (Tabla 2.2) y los comparamos con las magnitudes citadas por diversos autores para diversas zonas urbanas (Tabla 2.5), en este caso ciudades europeas, encontramos que el Pb presenta un valor de 386,54 ppm, muy por encima de los datos de prácticamente todas las ciudades citadas en la Tabla 2.5, excepto Katowice, lo que indica lo elevados que son los niveles medios de este metal en la zona de Haina. Caso muy diferente es el del Zn, con un valor medio en la zona de Haina (119,20 ppm) inferior a los descritos para la mayoría de las zonas de contraste utilizadas. En el caso del Cr, y aunque no disponemos de datos de contraste equivalentes a los mostrados para el Pb y el Zn, el valor medio encontrado en estos suelos potencialmente contaminados (15,67 ppm), podemos deducir que éstos son

muy bajos, ya que al compararlos con los valores de fondo medios (Tabla 2.4), es decir, de zonas no contaminadas, este valor medio para el Cr es incluso inferior a todos los valores medios de fondo de suelos de distintos ámbitos geográficos considerados.

Tabla 2.5. Comparación de los niveles de contaminación por Pb y Zn en ciudades europeas (ppm, peso seco) (adaptada a partir de Steindor *et al.*, 2016).

| Ciudad, país (referencia bibliográfica) | Pb | Zn |
|---|-------|-------|
| Avilés, España (Ordóñez <i>et al.</i> , 2003) | 149 | 376 |
| Banja Luka, Bosnia Herzegovina (Skribic <i>et al.</i> , 2012) | 51 | 109,1 |
| Bor, Serbia (Serbula <i>et al.</i> , 2012) | 59,3 | 211,9 |
| Brno, República Checa (Strnad <i>et al.</i> , 1994) | 50 | 27,5 |
| Estocolmo, Suecia (Linde <i>et al.</i> , 2001) | 104 | 157 |
| Katowice, Polonia (Steindor <i>et al.</i> , 20116) | 453.9 | 446,7 |
| Montagne du Nord, Francia (Douay <i>et al.</i> , 2007) | 356.5 | - |
| Nápoles, Italia (Imperato <i>et al.</i> , 2003) | 262 | 251 |
| Trondheim, Noruega (Andersson <i>et al.</i> , 2010) | 81 | 112 |
| Turín, Italia (Biasioli <i>et al.</i> , 2006) | 149 | 183 |
| Turku, Finlandia (Salonen y Korkka-Niemi, 2007) | 20 | 72,5 |
| Varsovia, Polonia (Pitchel <i>et al.</i> , 1997) | - | 139,6 |
| Vienna, Austria (Pfleiderer <i>et al.</i> , 2012) | 76,5 | 155,1 |

Por tanto, en los casos del Zn y el Cr, los resultados indicaron que el nivel de contaminación de estos elementos en el área de estudio no era muy grave, al estar, por lo general, por debajo de los valores de intervención de casi todas las legislaciones consideradas.

Por otro lado, en relación a los valores límite legales para la consideración de un suelo como contaminado y/o con necesidad de intervenir para su limpieza o remediación, hay que comentar que al no disponer la República Dominicana de normativa propia en relación a los valores de referencia de los elementos traza de los suelos, se ha utilizado como guía los valores legales correspondientes a otros países (Tabla 2.6). Se observa que la concentración media de Pb en el conjunto de los suelos estudiados, sin contar con el suelo control (386,54 ppm, Tabla 2.2), fue superior a la mayoría de los valores límite legales para considerar a un suelo como contaminado y/o requerir una intervención sobre los mismos. Caso muy distinto ha sido el de los otros dos metales pesados considerados, que presentaron valores inferiores a los valores de referencia de los países con normativa

específica que se han consultado para el presente trabajo (valores medios de 119,20 ppm para el Zn y 15,67 ppm para el Cr).

Tabla 2.6. Resumen de los valores de referencia de Pb, Zn y Cr en las legislaciones de diferentes países (ppm) (adaptado a partir de Wu *et al.*, 2014).

| País | Denominación | Pb | Zn | Cr |
|-----------------------------------|--------------------------------------|-----|-----|-----|
| Alemania (Desaules, 2012) | Directrices para suelos arcillosos | 100 | 200 | 100 |
| Alemania (Desaules, 2012) | Directrices para suelos limosos | 70 | 150 | 60 |
| Alemania (Desaules, 2012) | Directrices para suelos arenosos | 40 | 60 | 30 |
| Austria (Desaules, 2012) | Directrices generales | 100 | 300 | 100 |
| Canadá (CCME, 2007) | Directrices de zonas residenciales y | 140 | 200 | 64 |
| Canadá (CCME, 2007) | Directrices para zonas comerciales | 260 | 360 | 87 |
| Canadá (CCME, 2007) | Directrices para zonas industriales | 600 | 360 | 87 |
| China (CEPA, 1995) | Directrices generales | 300 | 250 | 200 |
| Holanda (Li <i>et al.</i> , 2004) | Directrices de valores objetivo | 85 | 140 | 100 |
| Holanda (Li <i>et al.</i> , 2004) | Directrices de intervención | 530 | 720 | 380 |
| Suiza (Desaules, 2012) | Directrices generales | 50 | 150 | 50 |

A su vez, al hacer este mismo contraste de los valores límite legales existentes en diversas legislaciones respecto de los valores puntuales de cada estación de muestreo considerada (Tabla 2.3), excluyendo la zona control, se han encontrado resultados de interés. Así, se detectó que los niveles de Pb en algunas estaciones de muestreo, principalmente en la proximidad de la antigua fábrica de baterías (Z1B), resultaron ser extraordinariamente altos (1.793,67 ppm), o muy altos (970,50 y 512,50 ppm) en el caso de las zonas industriales próximas (Z1A) y en una zona de bosque (Z2A), respectivamente. En todos estos casos, dichos niveles estaban muy por encima de los “valores límite” legales existentes en todos los países (menos Canadá) incluidos en la Tabla 2.6. En el caso de los suelos en una zona de cañada localizada en cotas más bajas que las anteriores (Z3A) se han medido valores de 225,40 ppm de Pb lo cual supera a siete de los once valores límite citados en la tabla 2.6. En una zona de centros escolares ubicada en cotas similares (Z2C), la concentración de Pb, con 91,67 ppm es considerablemente más baja, pero aún supera los “valores límite” legales de cuatro países citados en la tabla 2.6.

Para el caso del Zn, se observa que son la zona comercial (Z3B) y las zonas situadas en cotas más bajas (Z3A y Z3C) las que presentan unos mayores niveles de

contaminación, con valores por encima de todos los valores límite legales considerados, excepto para los valores de intervención holandeses.

Por último, para el caso del Cr, los valores son tan bajos en los suelos estudiados, que sus niveles no superaron, en ningún caso los valores límites considerados por las diferentes legislaciones.

A la luz de estos resultados, se puede deducir que las concentraciones de Pb, y en algunos casos puntuales de Zn encontrados en los suelos de Haina resultaron ser más altos que los valores propios de suelos no contaminados (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007), sobre todo en el entorno de la fábrica de baterías, para el caso del Pb, lo que significa que han sido producto de las actividades antropogénicas. Estas altas concentraciones de elementos tóxicos en las capas superficiales del suelo pueden ser consideradas como una vía de exposición para los seres humanos a través de la fracción de polvo, ya sea por inhalación o ingestión, sobre todo en las zonas más densamente pobladas (Skribic *et al.*, 2012).

Las concentraciones más bajas de Pb (< 100 ppm) se midieron en tanto en la zona de control, como en la zona residencial (Z1C), la zona no habitada (Z2B), la zona de centros escolares (Z2C), la zona comercial (Z3B), la zona cercana al río (Z3C) y la zona próxima a la refinería (Z4). En cuanto a las concentraciones más bajas de Zn (< 100 ppm) se observaron tanto en la zona control como en la zona industrial (Z1A), la zona donde estaba la antigua fábrica de baterías (Z1B), la zona de bosque (Z2A), la zona no habitada (Z2B), la zona de centros escolares (Z2C) y la zona de la refinería (Z4).

Casos particulares son los de las zonas comerciales (Z3B) y zonas cercanas al río (Z3C), que si bien presentan valores de Pb muy bajos, sus niveles de Zn son moderadamente importantes, posiblemente como consecuencia de alguna actividad industrial. Los altos niveles de Pb, Zn y Cr suelen estar conectados con la proximidad de las autopistas y zonas industriales (Imperato *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2010). En este sentido, la aparición en algunas de las estaciones de muestreo de valores de Pb más altos que los encontrados en zonas afectadas por procesos de contaminación debe ser el resultado de los efectos a largo plazo de las fábricas, como la antigua factoría de baterías, presentes en la zona, así como de alguna actividad industrial o comercial para el caso del Zn (Manta *et al.*, 2002, Imperato *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2010; Wei y Yang, 2010; Pfeleiderer *et al.*, 2012).

2.3.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE ELEMENTOS TRAZA EN LOS SUELOS DEL ÁREA DE HAINA

Las relaciones entre los elementos traza pueden proporcionar información importante sobre las fuentes y las vías de dispersión de estos elementos (Manta *et al.*, 2002). En este sentido, el coeficiente de correlación de Spearman y sus niveles de significación en los suelos de Haina se resumen en la Tabla 2.7. A este respecto, no se encontraron correlaciones significativas entre los diferentes elementos, lo cual nos puede estar indicando un origen diferente en cada caso (la fábrica de baterías para el caso del Pb y la zona comercial para el caso del Zn), mientras que el Cr no presenta valores significativamente considerables en ninguna de las estaciones de muestreo consideradas. En ambos casos, tanto la gravedad, a favor de la pendiente, como el transporte eólico y atmosférico han podido tener alguna influencia sobre esta distribución de los elementos.

Tabla 2.7. Matriz de Coeficientes de Correlación de Spearman para los elementos traza de los suelos del área de Haina. El triángulo inferior de la matriz (casillas marcadas en gris) indica el coeficiente de correlación, el triángulo superior (casillas marcadas en blanco) los valores *p* asociados. La correlación entre las concentraciones de metales es negativa y baja y en ningún caso estadísticamente significativa.

| | Cr | Pb | Zn |
|----|-------|-------|------|
| Cr | | 0,35 | 0,10 |
| Pb | -0,17 | | 0,62 |
| Zn | -0,29 | -0,07 | |

Todo lo expresado anteriormente se puede visualizar más claramente de una forma gráfica mediante los mapas geoquímicos de isoconcentración, que representan la variación espacial de Pb, Zn, y Cr en la zona de estudio mediante el método del “kriging”, (Figura 2.14).

Así, sobre la base de lo reflejado en dicha figura, se observa que las concentraciones de estos elementos variaron fuertemente en la zona de estudio para el caso del Pb, lo que indica un impacto de las actividades humanas asociadas a este metal, localizado principalmente en algunas zonas próximas a la antigua zona de baterías. Dichos mapas también muestran que las concentraciones de este elemento en los suelos superficiales cerca de la fábrica de baterías eran extremadamente altas (Z1B y Z1A), disminuyendo gradualmente con la distancia desde la fábrica, si bien se observan valores

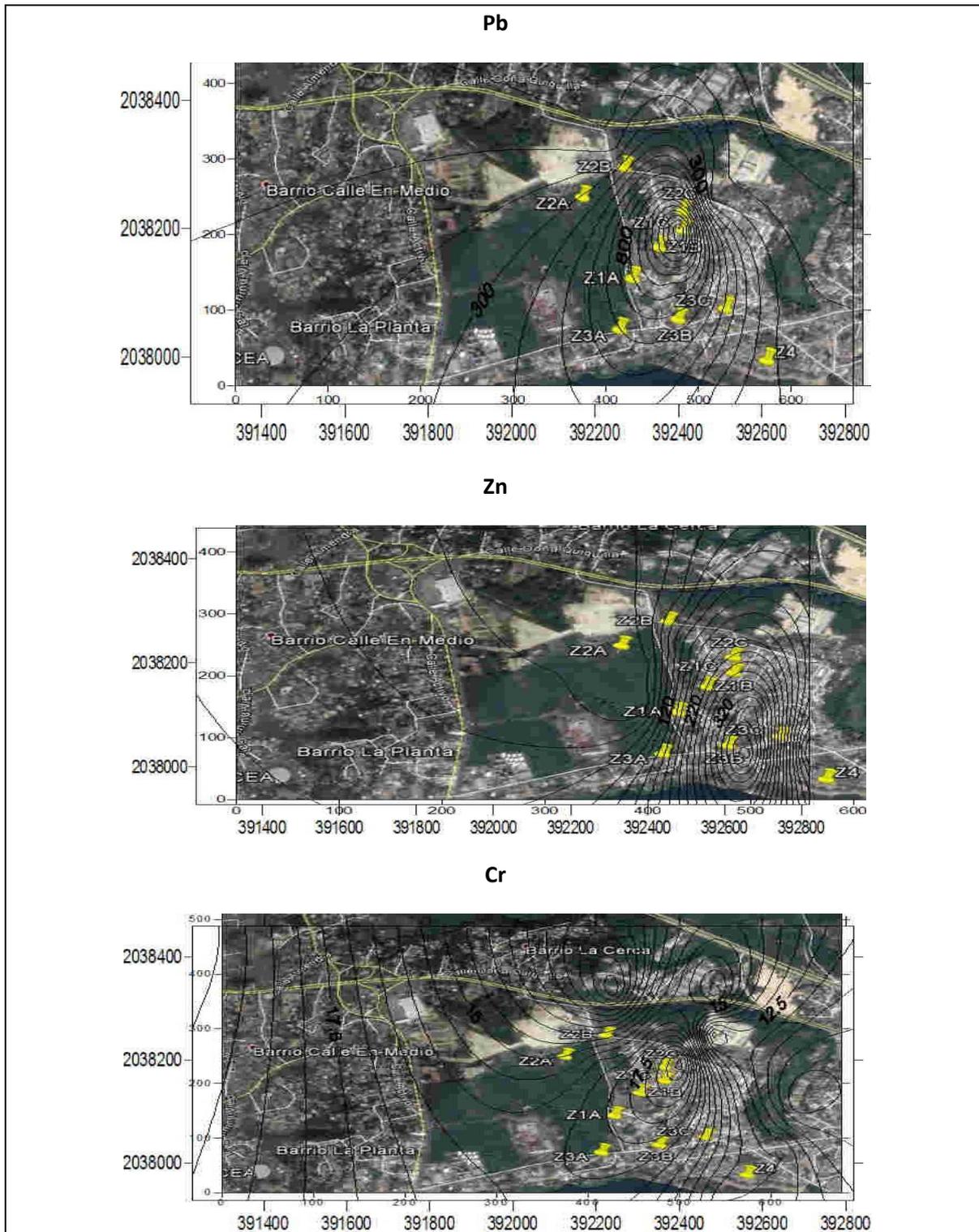


Figura 2.14. Distribución de los elementos traza estudiados (Pb, Zn y Cr) en los suelos superficiales del área de Haina (mapas de isoconcentración, unidades expresadas en ppm) (Datos del mapa ©2016 DigitalGlobe).

muy altos especialmente en algunas zonas aguas abajo, a favor de pendiente, como en el caso de la zona Z3A, aunque también en algunas zonas ubicadas en cotas algo más elevadas, como es el caso de Z2A. Estos resultados parecen indicar que la fábrica de baterías de Pb ácido es la principal fuente de Pb contaminante de la zona. El principal proceso en la fábrica era el reciclaje de baterías de automotores, proceso que generaba gran cantidad de partículas de Pb que fueron despedidas por las calderas al aire y que acabaron por depositarse en los suelos de su entorno más cercano.

Estudios similares llevados a cabo en otras zonas han puesto de manifiesto la existencia de correlaciones positivas entre la deposición atmosférica y la elevada concentración metálica en los suelos del entorno de zonas industriales (Onianwa y Fakayode, 2000; Sharma *et al.*, 2008). El polvo atmosférico rico en metales pesados procedente de la fábrica de baterías de Pb ácido se deposita gradualmente en los suelos superficiales bajo los efectos del viento y la gravedad. A este respecto, la dirección de los vientos dominantes en la zona, así como el efecto de la pendiente, pueden ser las razones principales de los patrones de distribución del Pb en el área de estudio. Resultados similares fueron descritos para otras zonas (Hernandez *et al.*, 2003; Rodríguez *et al.*, 2009, Chen *et al.*, 2012).

Por otro lado, en relación a los otros elementos estudiados, estos mapas de isoconcentración, permiten detectar, igualmente, la presencia de una serie de puntos calientes en relación a la presencia de Zn en las estaciones de muestreo Z3B y Z3C, y en menor medida en la zona Z3A, es decir en áreas ubicadas aguas abajo de la zona industrial.

La deposición atmosférica de metales pesados se considera un factor significativo en la contaminación del suelo urbano (Lindström, 2001). Igualmente, algunos estudios han puesto de manifiesto que las altas concentraciones de Pb en suelos urbanos se asocian con los tubos de escape de vehículos derivados de la utilización de gasolina con Pb (De Miguel *et al.*, 1997; Imperato *et al.*, 2003; Saby *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2008). Por otro lado, los compuestos de Zn se han empleado de forma generalizada como antioxidantes y como mejoradores de detergentes y dispersantes para aceites lubricantes (De Miguel *et al.*, 1999). Por lo tanto, el desgaste de los neumáticos puede contribuir significativamente al contenido de Zn en algunos suelos afectados por el tráfico de vehículos (Ellis y Revitt, 1982). Por su parte el Cr se ha utilizado tradicionalmente en algunos procesos industriales y de curtidos de pieles (Saby *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2008), si bien en la zona sus niveles

han sido mínimos, por lo que no resulta probable la existencia de ninguna actividad en Haina con influencia sobre los niveles de este elemento.

2.3.2. EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN Y EL RIESGO AMBIENTAL POR ELEMENTOS TRAZA DE LOS SUELOS SUPERFICIALES DE HAINA

En relación a la contaminación generada por metales pesados, considerando para ello únicamente tres elementos como son el Pb, el Zn y el Cr, la evaluación del nivel de contaminación, así como del riesgo ambiental y ecológico para los suelos estudiados se basó, respectivamente, en el cálculo del Factor de Contaminación (FC) y del Índice de Carga Contaminante (ICC).

Al observar los valores del FC para cada estación de muestreo (Tabla 2.8), los valores medios para este parámetro (excluida la zona control) fueron de 9,63, 0,55 y 0,37 para el Pb, Zn y Cr, respectivamente. En la mayoría de las muestras de suelo, el FC para el Pb estuvo por encima de 1,5, mientras que para el Zn estuvo por debajo de 1,0 y para el Cr por debajo de 0,5. En términos generales, el FC para el Pb osciló entre 0,60 y 45,43 (excluida la zona control), lo que indica que los suelos estudiados presentaron fuertes variaciones entre sí, en función del nivel de contaminantes que presentaban. A su vez, el nivel de contaminación edáfica por Zn osciló entre 0,10 y 1,70, lo que denota una escasa importancia de este agente contaminante en los suelos estudiados. Por último, el FC del Cr osciló entre 0,26 y 0,55 para el conjunto de los suelos estudiados.

En relación a los valores puntuales del FC de cada estación de muestreo considerada, excluyendo la zona control, se han encontrado resultados coincidentes con los de la representación gráfica o numérica de las concentraciones de cada elemento en su estación de muestreo de origen. Conforme a la intensidad de los niveles de contaminación, por Pb y siguiendo las recomendaciones de Muller (1969), los suelos de la zona se clasificaron como muy fuertemente contaminados cuando estos valores fueron ≥ 6 . Este fue el caso de las estaciones de muestreo localizadas en la proximidad de la antigua fábrica de baterías (Z1B), que presentaron valores de FC tremendamente elevados, o muy elevados como en el caso de algunas zonas industriales localizadas en zonas cercanas (Z1A), o de las muestras tomadas en una zona de bosque (Z2A). Siguiendo esta misma escala, cuando los valores se situaron entre 5 y 6 se clasificaron como áreas de contaminación de fuerte a

muy fuerte, como era el caso de una zona de cañada localizada en cotas más bajas (Z3A). Por su parte, la zona de centros escolares ubicada contra la pendiente (Z2C) presentó un nivel de contaminación considerado como moderado, al estar su FC entre 2 y 3. Por último, con un nivel de contaminación medio se encontraron las estaciones de muestreo correspondientes a las zonas comerciales (Z3B) y residenciales (Z1C), al presentar valores del FC situados entre 1 y 2, mientras que el resto de localidades no presentaron nivel alguno de contaminación por Pb.

Tabla 2.8. Valores del Factor de Contaminación (FC) de cada zona estudiada, para los tres elementos considerados (Pb, Zn y Cr). Los valores medios se han calculado para todas las zonas estudiadas, excluida la zona control.

| Zonas estudiadas | Pb | Zn | Cr |
|------------------|-------|------|------|
| Z0 (control) | 0,42 | 0,30 | 0,55 |
| Z1A | 24,58 | 0,10 | 0,49 |
| Z1B | 45,43 | 0,16 | 0,55 |
| Z1C | 1,47 | 0,50 | 0,29 |
| Z2A | 12,98 | 0,15 | 0,43 |
| Z2B | 0,72 | 0,09 | 0,26 |
| Z2C | 2,32 | 0,31 | 0,46 |
| Z3A | 5,71 | 0,91 | 0,36 |
| Z3B | 1,69 | 1,70 | 0,35 |
| Z3C | 0,60 | 1,40 | 0,28 |
| Z4 | 0,80 | 0,18 | 0,29 |
| Valores medios | 9,63 | 0,55 | 0,37 |

Por su parte, en relación al Zn, las estaciones de muestreo localizadas en las áreas relativamente bajas (Z3B, la zona comercial y Z3C la cercana al río), mostraron unos FC más elevados que los del resto de localidades y se corresponden en cualquier caso con un nivel de contaminación medio. Sin embargo, el resto de localidades presentaron valores sin contaminación alguna, al estar el valor del FC por debajo de 1.

En el caso del Cr, los FC fueron extremadamente bajos en todas las estaciones de muestreo consideradas, al estar en todos los casos por debajo de la unidad, lo que se traduce en una ausencia absoluta de contaminación por este elemento.

Al examinar la contaminación global de los suelos de la zona de estudio, a través del conjunto de los sitios de muestreo, mediante el ICC, se han observado comportamientos muy diferentes en función del elemento considerado, o de la zona estudiada.

Así, en relación al nivel global de contaminación de los suelos estudiados, al considerar los suelos de toda el área en función de un solo elemento, se observa que el ICC para el Pb fue de 3,44, mientras que para el Zn fue de 0,25 y para el Cr de 0,38. Conforme a la escala proporcionada por Bhuiyan *et al.* (2010), esto se traduce en un contaminación extremadamente elevada por Pb, al tener un ICC mayor que 3, mientras que si esta valoración se hiciese en función de los otros dos elementos considerados, estos suelos se considerarían como sin contaminación, al presentar valores $< 1,0$.

No obstante, al tomar en cuenta los valores del ICC para los tres elementos estudiados (Pb, Zn y Cr) para cada una de las zonas estudiadas (Tabla 2.9), se obtuvieron valores que oscilaron entre 0,27 y 1,60, con un valor medio para toda la zona de 0,84. Conforme a la escala de valoración de Bhuiyan *et al.* (2010), el promedio de los suelos estudiados se correspondería con el de suelos moderadamente contaminados, si bien gran parte de los mismos se podrían considerar como sin contaminación al presentar valores ICC $< 1,0$. Únicamente en el caso de las instalaciones de la antigua fábrica de baterías (Z1B), en una cañada localizada aguas abajo (Z3A), en la zona industrial (Z1A) y en las zonas comerciales (Z3B), se han dado índices que se podrían considerar como correspondientes a una contaminación moderada, al tener valores comprendidos entre 1 y 2.

Tabla 2.9. Valores del Índice de Carga de Contaminación (ICC) de los suelos superficiales para todas las zonas estudiadas, excluida la zona control, en función de los valores de FC de Pb, Zn y Cr.

| Z0 | Z1A | Z1B | Z1C | Z2A | Z2B | Z2C | Z3A | Z3B | Z3C | Z4 | Media global |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--------------|
| 0,41 | 1,07 | 1,60 | 0,60 | 0,94 | 0,27 | 0,69 | 1,24 | 1,00 | 0,62 | 0,34 | 0,84 |

A este respecto, cabe indicar que en nuestra opinión, el uso en este caso del ICC global de todos los elementos conjuntamente, puede llegar a inducir a interpretaciones erróneas del grado de contaminación de una zona en concreto, ya que por la propia naturaleza de esta fórmula, niveles bajos de FC para elementos como el Zn y el Cr, pueden llegar a modular la gran magnitud que en algunas localidades presenta el FC para el Pb, induciendo a falsas apreciaciones del riesgo existente. Algo similar ocurre cuando optamos por interpretar como más fidedigno el cálculo de ICC para un solo elemento en toda la zona, ya que en este caso, las grandes diferencias entre valores FC de distintas localidades pueden compensarse unos con otros. En consecuencia, este ICC habrá de interpretarse, en nuestra opinión, siempre con prudencia.

2.4. CONCLUSIONES

Las propiedades fisicoquímicas del suelo no fueron significativamente diferentes entre las muestras estudiadas, con unos valores medios de 8,12 y 297,45 para el pH y la conductividad eléctrica, respectivamente, lo cual nos da idea de la relativa homogeneidad de los suelos estudiados.

Respecto de los elementos traza considerados, resulta significativo que mientras que el Pb presenta valores medios muy por encima de los valores propios de otras zonas estudiadas en diferentes países, los valores de Zn se presentan dentro del rango normal de estos valores, mientras que el Cr muestra unos valores llamativamente más bajos que los propios para otras zonas no contaminadas. Por tanto, se puede concluir que la zona objeto de estudio presenta un fuerte grado de contaminación debido, básicamente, al Pb. A su vez, si se comparan estos valores encontrados en los suelos de Haina, con los valores límite legales de distintas legislaciones internacionales (Alemania, Austria, Canadá, China, Holanda y Suiza) para la consideración de un suelo como contaminado y/o con necesidad de intervenir para su limpieza o remediación, al no disponer la República Dominicana de normativa propia en relación a los valores de referencia de los elementos traza de los suelos, se ha constatado que los 386,54 ppm de Pb encontrados en promedio en la zona estudiada superan la mayoría de los “valores límite” legales para considerar a un suelo como contaminado y/o requerir una intervención sobre los mismos. Caso muy distinto ha sido el de los otros dos metales pesados considerados, ya que tanto los 119,20 ppm de Zn, como los 15,67 ppm de Cr se encontraban muy por debajo de los valores de intervención de las normativas consultadas.

Por otro lado, al hacer este mismo contraste de los “valores límite” legales existentes en diversas legislaciones respecto de los valores puntuales de cada estación de muestreo considerada, se ha podido comprobar que los emplazamientos situados en el entorno de la antigua fábrica de baterías o en áreas susceptibles de recibir arrastres a favor de pendiente desde esta antigua fábrica, presentan elevados valores de Pb. De igual modo, aunque a menor escala, sucede con el Zn proveniente de la zona comercial, mientras que no existe ningún riesgo en lo relativo a la presencia de Cr en estos suelos.

En lo que concierne a las relaciones entre los elementos con niveles considerables (Pb y Zn) y sus posibles fuentes y vías de dispersión, al no encontrarse correlaciones significativas entre los diferentes elementos, esto parece indicar la existencia de un origen diferente en cada caso (la fábrica de baterías para el caso del Pb y la zona comercial para el caso del Zn). Tanto para el Pb como para el Zn, la pendiente, así como el transporte eólico y atmosférico han debido determinar esta distribución.

Por último, en relación a la evaluación del nivel de contaminación, así como del riesgo ambiental y ecológico de los suelos estudiados, según sus respectivos valores del FC, en términos generales, para el Pb se observaron fuertes variaciones, si bien los niveles fueron en muchos de los casos muy altos, coincidentes con los altos valores del Pb edáfico. Por su parte, y en función del mismo indicador, el Zn se mostró como un agente contaminante de escasa importancia, mientras que el Cr no presentó ningún valor significativo a este respecto. A su vez, al evaluar la contaminación global de los suelos de la zona de estudio a través del conjunto de los distintos suelos muestreados, mediante el ICC, se han observado comportamientos muy diferentes en función de la zona estudiada o de los elementos considerados. De este modo, al considerar los suelos de toda el área en función de un solo elemento, se observa que los suelos de Haina presentan una contaminación extremadamente elevada por Pb, mientras que si esta valoración se hiciese en función de los otros dos elementos considerados, estos suelos se considerarían como sin contaminación, al presentar valores medios $< 1,0$. Por su parte, al calcular este índice para los tres elementos estudiados (Pb, Zn y Cr) y para el conjunto de la zona estudiada se obtuvo una valoración media de contaminación moderada, debido a la minimización de este índice como consecuencia de la escasa presencia del Zn, pero sobre todo del Cr en la mayor parte de los suelos estudiados.

Por tanto, a la luz de estos resultados, se concluye que en las zonas con niveles moderados o elevados tanto de Pb (en el emplazamiento de la antigua fábrica de baterías,

como en su entorno y zonas de influencia a favor de pendiente), como de Zn (en el entorno de la zona comercial), se deberían adoptar medidas concretas para minimizar los riesgos tanto sobre el ecosistema natural, como sobre los productos agrícolas y la población de la zona, como podrían ser, por ejemplo, la implementación de un programa de fitorremediación para la reducción de carga metálica contaminante en estos suelos. Asimismo, sería de gran interés el proceder, con carácter urgente, a la determinación de los niveles de polución por Pb y Zn, principalmente, en los suelos y atmósfera del área de Haina.

2.5. BIBLIOGRAFÍA

- Abraham, G.M.S., Parker, R.J., 2008. Assessment of heavy metal enrichment factors and the degree of contamination in marine sediments from Tamaki Estuary, Auckland, New Zealand. *Environmental Monitoring and Assessment*, 136, 227–238.
- Aelion, C.M., Davis, H.T., McDermott, S., Lawson, A.B., 2008. Metal concentrations in rural topsoil in South Carolina: potential for human health impact. *Science of the Total Environment*, 402, 149–156.
- Ahmed, F., Ishiga H., 2006. Trace metal concentrations in street dusts of Dhaka city, Bangladesh. *Atmospheric Environment*, 40(21), 3835–3844.
- Alloway, B.J., 1995. *Heavy metals in soils*. Blackie Academic & Professional. Ltd., London.
- Andersson, M., Ottesen, R.T., Langedal. M. 2010. Geochemistry of urban surface soils—Monitoring in Trondheim, Norway. *Geoderma*, 156, 112–118.
- Andreu, V., Boluda, J.R., 1995. Application of contamination indexes on different farming soils. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 54, 228–236.
- Babula, P., Adam, V., Optrilova, R., Zehnalek, J., Havel, L., Kizek, R., 2008. Uncommon heavy metals, metalloids and their plant toxicity: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 6(4), 189–213.
- Bentum, J.K., Anang, M., Boadu, K.O., Koranteng-Addo, E.J., Owusu Antwi, E., 2011. Assesment of heavy metals pollution of sediments from Fosu Lagoon in Ghana. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 25(2), 191–196.

- Bhuiyan, M.A.H., Parvez, L., Islam, M., Dampare, S.B., Suzuki, S., 2010. Heavy metal pollution of coal mine-affected agricultural soils in the northern part of Bangladesh. *Journal of Hazardous Materials*, 173, 384–392.
- Biasioli, M., Barberi, R., Ajmone-Marsan F., 2006. The influence of a large city on some soil properties and metals content. *Science of the Total Environment*, 356(1-3), 154–164.
- Blacksmith Institute, 2010. Top Six Toxic Threats 2010. Used Lead Acid Battery Recycling. Haina Dominican Republic. Disponible en: <http://www.worstpolluted.org/used-lead-acid-battery-recycling-in-haina-dominican-republic-2010.html>. Accedido el 20/10/2016.
- Blacksmith Institute, 2014. Project Completion Report: Used lead acid battery site remediation. Disponible en: <http://www.blacksmithinstitute.org/files/FileUpload/files/Haina%20Project%20Completion.pdf>. Accedido el 20/10/2016.
- Caiero, S., Costa, M.H., Ramos, T.B., Fernandez, F., Silferia, N., 2005. Assessing heavy metal contamination in Sado estuary sediment: an index analysis approach. *Ecological Indicators*, 5, 151–169.
- CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment), 2007. Canadian soil quality guidelines for the protection of environmental and human health. Disponible en: <http://ceqg-rcqe.ccme.ca/en/index.html>. Accedido el 20/9/2014.
- CEMS (Chinese Environmental Monitoring Station), 1990. Background values of elements in soils of China (in Chinese). China Environmental Press, Beijing.
- Cendrero Uceda, A., 1996. El patrimonio geológico: bases para su valoración, protección, conservación y utilización. Ministerio de Obras Públicas, Transportes y Medio ambiente, Dirección General de Información y Evaluación Ambiental, Madrid.
- CEPA (Chinese Environmental Protection Administration), 1995. Environmental quality standard for soils (GB 15618-1995) (in Chinese). Disponible en: <http://kjs.mep.gov.cn/hjbhbz/bzwb/trhj/trhjzlbz/199603/W020070313485587994018.pdf>. Accedido el 20/9/2014.

- Chen, L., Xu, Z., Liu, M., Huang, Y., Fan, R., Su, Y., Hu, G., Peng, X. 2012. Lead exposure assessment from study near a lead-acid battery factory in China. *Science of the Total Environment*, 429, 191–198.
- Chen, T., Liu, X.M., Zhu, M.Z., Zhao, K.L., Wu, J.J., Xu, J.M., Huang, P.M., 2008. Identification of trace element sources and associated risk assessment in vegetable soils of the urban–rural transitional area of Hangzhou, China. *Environmental Pollution*, 151, 67–78
- Chen, T., Liu, X., Li, X., Zhao, K., Zhang, J., Xu, J., Shi, J., Dahlgren, R.A., 2009. Heavy metal sources identification and sampling uncertainty analysis in a field-scale vegetable soil of Hangzhou, China. *Environmental Pollution*, 157, 1003–1010.
- Chen, T.B., Zheng, Y.M., Lei, M., Huang, Z.C., Wu, H.T., Chen, H. et al., 2005. Assessment of heavy metal pollution in surface soils of urban parks in Beijing, China. *Chemosphere*, 60(4), 542–551.
- Chen, X., Xia, X., Zhao, Y., Zhang, P., 2010. Heavy metal concentrations in roadside soils and correlation with urban traffic in Beijing, China. *Journal of Hazardous Materials*, 181, 640–646.
- Cheng, S., 2003. Heavy metal pollution in China: origin, pattern and control. *Environmental Science and Pollution Research*, 10, 192– fueron muy altos et al., 1997. Origin and patterns of distribution of trace elements in street dust: unleaded petrol and urban lead. *Atmospheric Environment*, 31(17), 2733–2740.
- De Miguel, E., de Grado, M.J., Llamas, J.F., Martin-Dorado, A., Mazadiego, L.F., 1998. The overlooked contribution of compost application to the trace element load in the urban soil of Madrid (Spain). *Science of the Total Environment*, 215(1-2), 113–122.
- De Miguel, E., Llamas, J.F., Chacón, E., Mazadiego, L.F., 1999. Sources and pathways of trace elements in urban environments: a multi-elemental qualitative approach. *Science of the Total Environment*, 235(1-3), 355–357.
- De Miguel, E., Iribarren, I., Chacón, E., Ordoñez, A., Charleworth, S., 2007. Risk-based evaluation of the exposure of children to trace elements in playgrounds in Madrid (Spain). *Chemosphere*, 66(3), 505–513.

- De Temmerman, L., Vanongeval, L., Boon, W., Hoenig, M., Geypens, M., 2003. Heavy metal content of arable soils in northern Belgium. *Water, Air, & Soil Pollution* 148, 61–76.
- Desaules, A., 2012. Critical evaluation of soil contamination assessment methods for trace metals. *Science of the Total Environment*, 426, 120–131.
- Din, T.B., 1992. Use of aluminium to normalize heavy metal data from estuarine and coastal sediments of straits of Melaka. *Marine Pollution Bulletin*, 24, 484–491.
- Douay, F., Roussel, H., Fourrier, H., Heyman, Ch., Chateau, G., 2007. Investigation of heavy metal concentrations on urban soils, dust and vegetables nearby a former smelter site in Mortagne du Nord, Northern France. *Journal of Soils and Sediments*, 7(3), 143–146.
- Einax, J.W., Zwaninger, H.W., Geib, S., 1997. *Chemometrics in environmental analysis*. VCH A Wiley Company, Weinheim.
- El Nacional, 2013. Haina tercera ciudad más contaminada. Disponible en: <http://elnacional.com.do/haina-tercera-ciudad-mas-contaminada/>. Accedido el 12/10/2013.
- Ellis, JB, Revitt, D.M., 1982. Incidence of heavy metals in street surface sediments: solubility and grain size studies. *Water, Air, and Soil Pollution*, 17(1), 87–100.
- Ferreira-Baptista, L, De Miguel, E., 2005. Geochemistry and risk assessment of street dust in Luanda, Angola: a tropical urban environment. *Atmospheric Environment*, 39(25), 4501–4512.
- Foucault, Y., Durand, M.J., Tack, K., Schreck, E., Geret, F., Leveque, T., Pradere, P., Goix, S., Dumat, C., 2013. Use of ecotoxicity test and ecoscores to improve the management of polluted soils: case of a secondary lead smelter plant. *Journal of Hazardous Materials*, 246, 291–299.
- Gallego, J.L.R., Ordóñez, A., Loredo, J., 2002. Investigation of trace element sources from an industrialized area (Aviles, northern Spain) using multivariate statistical methods. *Environment International*, 27, 589–596.

- Guo, G.H., Lei, M., Chen, T.B., Song, B., Li, X.Y., 2008. Effect of road traffic on heavy metals in road dusts and roadside soils. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 28(10), 1937–1945.
- Hakanson, L., 1980. Ecological risk index for aquatic pollution control. A sedimentological approach. *Water Research*, 14, 975–1001.
- Han, Y.M., Du, P.X., Cao, J.J., Posmentier, E.S., 2006. Multivariate analysis of heavy metal contamination in urban dusts of Xi'an, Central China. *Science of the Total Environment*, 355(1-3), 176–186.
- Harrell, F.E. Jr with contributions from many other users, 2016, Hmisc: Harrell Miscellaneous, R package version 3.1.3.
- He, J., Xu, G., Zhu, H., Peng, G., 2005. Soil background values of Jiangxi Province. Chinese Environmental Science Press, Beijing.
- Hernandez, L., Probst, A., Probst, J.L., Ulrich, E., 2003. Heavy metal distribution in some French forest soils: evidence for atmospheric contamination. *Science of the Total Environment*, 312, 195–219.
- Homa, J., Niklinska, M., Plytycz, B., 2003. Effect of heavy metals on coelomocytes of the earthworm *Allolobophora chlorotica*. *Pedobiologia*, 47, 640–645.
- Huang, M.L., Zhou, S.L., Sun, B., Zhao, Q.G., 2008. Heavy metals in wheat grain: assessment of potential health risk for inhabitants in Kunshan, China. *Science of the Total Environment*, 405, 54–61.
- Imperato, M., Adamo, P., Naimo, D., Arienmo, M., Stanzione, D., Violante, P., 2003. Spatial distribution of heavy metals in urban soils of Naples City (Italy). *Environmental Pollution*, 124(2), 247–256.
- Jung, C.M., 2001. Heavy metal contamination of soil and waters in and around the Jincheon Au-Ag mine, Korea. *Applied Geochemistry*, 16, 1369–1375.
- Kabata-Pendias, A., Mukherjee, A.B., 2007. Trace Elements from Soil to Human. Springer-Verlag, New York.
- Khan, S., Cao, Q., Zheng, Y., Huang, Y., Zhu, Y., 2008. Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environmental Pollution*, 152, 686–692.

- Li, W., Zhang, X., Wu, B., Sun, S., Chen, Y., Pan, W., Zhao, D., Cheng, S., 2008. A comparative analysis of environmental quality assessment methods for heavy metal-contaminated soils. *Pedosphere*, 18 (3), 344–352.
- Li, X., Feng, L., 2012. Multivariate and geostatistical analysis of metals in urban soil of Weinan industrial areas, Northwest China. *Atmospheric Environment*, 47, 58–65.
- Li, X.D., Lee, S.L., Wong, S.C., Shi, W.Z., Thornton, I., 2004. The study of metal contamination in urban soils of Hong Kong using a GIS-based approach. *Environmental Pollution*, 129(1), 113–124.
- Lim, H.S., Lee, J.S., Chon, H.T., Sager, M., 2008. Heavy metal contamination and health risk assessment in the vicinity of the abandoned Songcheon Au-Ag mine in Korea. *Journal of Geochemical Exploration*, 96(2-3), 223–230.
- Linde, M., Bengtsson, H., Oborn, I., 2001. Concentrations and pools of heavy metals in urban soils in Stockholm, Sweden. *Water, Air, and Soil Pollution: Focus*, 1, 83–101.
- Lindström, M., 2001. Urban land use influences on heavy metal fluxes and surface sediment concentrations of small lakes. *Water, Air, and Soil Pollution*, 126(3-4), 363–383.
- Liu, P., Zhao, H., Wang, L., Liu, Z., Wei, J., Wang, Y., Jiang, L., Dong, L., Zhang, Y., 2011. Analysis of heavy metal sources for vegetable soils from Shandong Province, China. *Agricultural Sciences in China*, 10, 109–119.
- Liu, J., Wang, J., Qi, J., Li, X., Chen, Y., Wang, C., Wu, Y., 2012. Heavy metal contamination in arable soils and vegetables around a sulfuric acid factory, China. *CLEAN - Soil, Air, Water*, 40, 766–772.
- Ljung, K., Selinus, O., Otabbong, E., 2006. Metals in soils of children's urban environments in the small northern European city of Uppsala. *Science of the Total Environment*, 366(2-3), 749–759.
- Lu, C.A., Zhang, J.F., Jiang, H.M., Yang, J.C., Zhang, J.T., Wang, J.Z., Shan, H.X., 2010. Assessment of soil contamination with Cd, Pb and Zn and source identification in the area around the Huludao Zinc Plant. *Journal of Hazardous Materials*, 182, 743–748.

- Lu, X., Wang, L., Lei, K., Huang, J., Zhai, Y., 2009. Contamination assessment of copper, lead, zinc, manganese and nickel in street dust of Baoji, NW China. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 161(2–3), 1058–1062.
- Luo, W., Wang, T., Lu, Y., 2007. Landscape ecology of the Guanting Reservoir, Beijing, China: multivariate and geostatistical analyses of metals in soils. *Environmental Pollution* 146, 567–576.
- Luo, X., Yu, S., Zhu, Y., Li, X., 2012. Trace metal contamination in urban soils of China. *Science of the Total Environment* 421–422, 17–30.
- Manta, D.S., Angelone, M., Bellanca, A., Neri, R., Sprovieri, M., 2002. Heavy metals in urban soils: a case study from the city of Palermo (Sicily), Italy. *Science of the Total Environment*, 300(1-3), 229–243.
- Martínez Sánchez, M.J., Pérez Sirvent, C., 2007. Niveles de fondo y niveles genéricos de referencia de metales pesados en suelos de la Región de Murcia. Universidad de Murcia y Consejería de Desarrollo Sostenible y Ordenación del Territorio, Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, Murcia.
- McCartor, A., Becker, D., 2010. Blacksmith Institute's world worst pollution problems report 2010. Top six toxic threats. Blacksmith Institute, New York. Disponible en: www.worstpolluted.org. Accedido el 25/10/15.
- Micó, C., Recatalá, L., Peris, M., Sánchez, J., 2006. Assessing heavy metal sources in agricultural soils of an European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere*, 65, 863–872.
- Muller, G., 1969. Index of geo-accumulation in sediments of the Rhine river. *GeoJournal*, 2, 108–118.
- Nriagu, J.O., 1988. A silent epidemic of environmental metal poisoning? *Environmental Pollution*, 50, 139–161.

- Oficina Nacional de Estadística, 2008. San Cristóbal en Cifras. Perfil Sociodemográfico Provincial. Disponible en: https://www.google.es/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwiq1KPLyL_QAhULOxQKHVyrCpAQFggdM AA&url=http%3A%2F%2Fwww.one.gob.do%2FMultimedia%2FDownload%3FObjId%3D4586&usg=AFQjCNFN39QGkIDRvbvOW8x3_X74fSwRTQ&cad=rja.
Accedido el 23/8/2016.
- Onianwa, P.C., Fakayode, S.O., 2000. Lead contamination of topsoil and vegetation in the vicinity of a battery factory in Nigeria. *Environmental Geochemistry and Health*, 22, 211–218.
- Ordóñez, A., Loredó, J., De Miguel, E., Charlesworth, S., 2003. Distribution of heavy metals in the street dusts and soils of an industrial city in Northern Spain. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44, 160–170.
- Pfleiderer, S., Englisch, M., Reiter, R., 2012. Current state of heavy metal contents in Vienna soils. *Environmental Geochemistry and Health*, 34, 665–675.
- Pitchel, J., Sawyerr, H.T., Czarnowska, K., 1997. Spatial and temporal distribution of metals in soils of Warsaw, Poland. *Environmental Pollution*, 98(2), 169–174.
- Poggio, L., Vrscaj, B., Schulín, R., Hepperle, E., Marsan, F.A., 2009. Metals pollution and human bioaccessibility of topsoils in Grugliasco (Italy). *Environmental Pollution*, 157(2): 680–
- Praveena, S.M., Radojevic, M., Abdullah, M.H., 2007. The assessment of mangrove sediment quality in Mengkabong Lagoon: an index analysis approach. *International Journal of Environmental and Science Education*, 2(3), 60–68.
- R Development Core Team, 2006. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Reimann, C., de Caritat, P., 1998. *Chemical Elements in the Environment. Factsheets for the Geochemist and Environmental Scientist*. Springer-Verlag, Berlin.
- Rodríguez, L., Ruiz, E., Alonso-Azcárate, J., Rincón, J., 2009. Heavy metal distribution and chemical speciation in tailings and soils around a Pb–Zn mine in Spain. *Journal of Environmental Management*, 90, 1106–1116.

- Rodríguez Martín, J.A., Vázquez de la Cueva, A., Grau Corbí, J.M., López Arias, M., 2007. Factors controlling the spatial variability of copper in topsoils of the Northeastern Region of the Iberian Peninsula, Spain. *Water, Air, and Soil Pollution*, 186, 311–321.
- Romic, M., Romic, D., 2003. Heavy metal distribution in agricultural topsoils in urban area. *Environmental Geology*, 43, 795–805.
- Saby, N., Arrouays, D., Boulonne, L., Jolivet, C., Pochot, A., 2006. Geostatistical assessment of Pb in soil around Paris, France. *Science of the Total Environment*, 367(1), 212–221.
- Salonen, V.P., Korkka-Niemi, K., 2007. Influence of parent sediments on the concentration of heavy metals in urban and suburban soils in Turku, Finland. *Applied Geochemistry*, 22(5), 906–918.
- Sanchez-Camazano, M., Sanchez-Martin, M.J., Lorenzo, L.F., 1998. Significance of soil properties for content and distribution of cadmium and lead in natural calcareous soils. *Science of Total Environment*, 218(2-3), 217–226.
- Serbula, S.M., Milijkovic, D.D., Kovacevic, R.M., Ilic, A.A., 2012. Assessment of airborne heavy metal pollution using plant parts and topsoil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76, 209-214.
- Servicio Geológico Nacional, 2004. Estudio Hidrogeológico Nacional de la República Dominicana Fase II. Unidad Hidrogeológica de la Cordillera Central. Programa Sysmin. Disponible en: <http://mapas.igme.es/sgn/hidro/memorias/Estudio%20Hidrogeol%C3%B3gico%20de%20la%20Cordillera%20Central.pdf>. Accedido el 23/8/2016.
- Sharma, R.K., Agrawal, M., Marshall, F.M., 2008. Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) contamination of vegetables in urban India: a case study in Varanasi. *Environmental Pollution*, 154, 254–263.
- Shin, P.K.S., Lam, W.K.C., 2001. Development of a marine sediment pollution index. *Environmental Pollution* 113, 281–291.

- Skribic, B., Milovac, S., Matavulj, M., 2012. Multielement profiles of soil, road dust, tree bark and wood-rotten fungi collected at various distances from high-frequency road in urban area. *Ecological Indicators*, 13, 168–177.
- Smith, D.R., Kahng, M.W., Quintanilla-Vega, B., Fowler, B.A., 1998. High-affinity renal lead-binding proteins in environmentally-exposed humans. *Chemico-Biological Interactions*, 115, 39–52.
- Spearman, C., 1910. Correlation calculated with faulty data. *British Journal of Psychology*, 3, 271–295.
- Stafilov, T., Šajin, R., Pančevski, Z., Boev, B., Frontasyeva, M.V., Strelkova, L.P., 2010. Heavy metal contamination of topsoils around a lead and zinc smelter in the Republic of Macedonia. *Journal of Hazardous Materials*, 175, 896–914.
- Steindor, K.A., Franiel, I.J., Bierza, W.M., Pawlak, B., Pawlowski, B.F., 2016. Assessment of heavy metal pollution in surface soils and plant material in the post-industrial city of Katowice, Poland. *Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering*, 51(5), 371-379.
- Strnad, M., Sanka, M., Bohacek, Z., Borkovcova, I., Vondra, J., 1994. Soil pollution by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons in the town of Brno (Czech Republic). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 54(3), 233–248.
- Sun, Y., Zhou, Q., Xie, X., Liu, R., 2010. Spatial, sources and risk assessment of heavy metal contamination of urban soils in typical regions of Shenyang, China. *Journal of Hazardous Materials*, 174, 455–462
- Taghipour, H., Mosafiri, M., Armanfar, F., Gaemmagami, S.J., 2013. Heavy metals pollution in the soils of suburban areas in big cities: a case study. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10, 243–250.
- Tahri, M., Benyaich, F., Bounakhla, M., Bilal, E., Gruffat, J.J., Moutte, J., Garcia, D., 2005. Multivariate analysis of heavy metal contents in soils. Sediments and water in the region of Meknes (central Morocco). *Environmental Monitoring and Assessment*, 102, 405–417.

- Tomlinson, D.L., Wilson, J.G., Harris, C.R., Jeffrey, D.W., 1980. Problems in the assessment of heavy metal levels in estuaries and the formation of a pollution index. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 33, 566–575.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency), 1996. Method 3050B: Acid Digestion of Sediments Sludges and Soils (version 2).
- Utermann, J., Düwel, O., Nagel, I., 2006. Part II. Contents of trace elements and organic matter in European soils. En: Gawlik, B.M., Bidoglio, G. (eds.), *Background values in European soils and sewage sludges. Results of a JRC-coordinated study on background values*, pp. 1-282. European Commission, Luxembourg.
- Wang, Z., Chen, J., Chai, L., Yang, Z., Huang, S., Zheng, Y., 2011. Environmental impact and site-specific human health risks of chromium in the vicinity of a ferro-alloy manufactory, China. *Journal of Hazardous Materials*, 190, 980–985.
- Wei, B.G., Yang, L.S., 2010. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China. *Microchemical Journal*, 94(2), 99–107.
- Wong, S.C., Li, X.D., Zhang, G., Qi, S.H., Min, Y.S., 2002. Heavy metals in agricultural soils of the Pearl River Delta, South China. *Environmental Pollution*, 119, 33–44.
- Wu, J., Teng, Y., Lu, S., Wang, Y., & Jiao, X., 2014. Evaluation of soil contamination indices in a mining area of Jiangxi, China. *PloS one*, 9(11), e112917.
- Wu, S., Xia, X.H., Lin, C.Y., Chen, X., Zhou, C.H., 2010. Levels of arsenic and heavy metals in the rural soils of Beijing and their changes over the last two decades (1985–2008). *Journal of Hazardous Materials*, 179, 860–868.
- Wu, S., Xia, X., Yang, L., Liu, H., 2011. Distribution, source and risk assessment of polychlorinated biphenyls (PCBs) in urban soils of Beijing, China. *Chemosphere*, 82, 732–738.
- Wu, S., Xia, X.H., Zhang, S.W., Liu, Q., Xu, L., 2012. Distribution of polychlorinated biphenyls (PCBs) and toxic equivalency of dioxin-like PCB congeners in rural soils of Bei-jing, China. *Journal of Environmental Informatics*, 20, 12–19.

- Xu, S.J., Zheng, N., Liu, J.S., Wang, Y., Chang, S.Z., 2013. Geochemistry and health risk assessment of arsenic exposure to street dust in the zinc smelting district, Northeast China. *Environmental Geochemistry and Health*, 35, 89–99.
- Yaylali-Abanuz, G., 2011. Heavy metal contamination of surface soil around Gebze industrial area, Turkey. *Microchemical Journal*, 99(1), 82–92.
- Zhang, C., Selinus, O., Kjellstrom, G., 1999. Discrimination between natural background and anthropogenic pollution in environmental geochemistry – exemplified in an area of south-eastern Sweden. *Science of the Total Environment*, 243–244, 129–140.
- Zhao, H., Xia, B., Fan, C., Zhao, P., Shen, S., 2012. Human health risk from soil heavy metal contamination under different land uses near Dabaoshan Mine, Southern China. *Science of the Total Environment*, 417–418, 45–54.
- Zheng, N., Liu, J., Wang, Q., Liang, Z., 2010. Health risk assessment of heavy metal exposure to street dust in the zinc smelting district, Northeast of China. *Science of the Total Environment*, 408, 726–733.

**CAPÍTULO 3. DISTRIBUCIÓN DEL PLOMO Y
OTROS METALES EN LA VEGETACIÓN DE
LA ZONA DE HAINA, REPÚBLICA
DOMINICANA**

3.1. INTRODUCCIÓN

3.1.1. AFECCIÓN DE LOS ECOSISTEMAS POR ELEMENTOS TRAZA

La contaminación por elementos traza se atribuye a las emisiones de fuentes naturales y antropogénicas (Csavina *et al.*, 2012; Pan *et al.*, 2013), siendo el principal contribuyente la actividad humana. En concreto, la contaminación por elementos traza en el medio ambiente proviene de la fundición de metales no ferrosos (Jung, 2011; Xia *et al.*, 2011; Csavina *et al.*, 2012; Kierczak *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2013). Metales como el Pb, entre otros, son conocidos como posibles elementos carcinogénicos al estar asociados con la etiología de muchas enfermedades, especialmente las relacionadas con el sistema cardiovascular, riñón, sistema nervioso y los huesos, así como con la presión arterial alta (Järup, 2003). Por otro lado, el exceso de Zn y Cu en el suelo y en las plantas es una cuestión que genera una alta preocupación debido a que implican una alta toxicidad para los seres humanos y el resto de seres vivos a través de la cadena trófica (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007; Bermúdez *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2013).

Los elementos traza se transfieren al medio ambiente desde las explotaciones mineras, industriales y/o fundiciones, afectando al suelo, agua, alimentos silvestres, flora, e incluso a las poblaciones humanas a través de las cadenas alimentarias o por ingestión directa (Navarro *et al.*, 2008; Jamali *et al.*, 2009, Bermúdez *et al.*, 2011; Csavina *et al.*, 2012).

Por lo tanto, la recopilación de información sobre la contaminación por elementos traza del suelo y su transferencia a las plantas es una fuente básica de conocimiento para tener criterios objetivos sobre los que poder evaluar el riesgo para la salud humana (Zhuang *et al.*, 2009, Bermúdez *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2013).

3.1.2. INTERÉS DE LA FITORREMEDIACIÓN PARA LA RECUPERACIÓN DE LOS SUELOS CONTAMINADOS

Existe una gran diversidad de tecnologías aplicables para la recuperación de los suelos afectados por procesos de degradación física, y en concreto por procesos de contaminación (Cai *et al.*, 2009a). Los tratamientos convencionales mecánicos o físico-

químicos como la excavación, lavado de suelos, solidificación / estabilización, remediación electrocinética y la incineración de suelos, adolecen de limitaciones como mano de obra costosa, alteración irreversible del suelo, etc., incluso los métodos químicos, también pueden crear problemas de contaminación secundaria; por lo tanto, se necesitan más investigaciones que lleguen a desarrollar y aplicar procesos eficientes, sostenibles y rentables para la descontaminación de suelos afectados por elementos traza (Cai *et al.*, 2009a; Dong *et al.*, 2013). De acuerdo con este requisito, la fitorremediación se plantea como una solución alternativa y ecológica para mejorar la situación de los suelos contaminados por metales y metaloides (Sainger *et al.*, 2011; Ali *et al.*, 2013).

Tal como se ha descrito en el capítulo 1, apartado 1.3.1 de la presente memoria, las tecnologías de fitorremediación incluyen principalmente la fitoextracción y la fitoestabilización. La fitoextracción, que se basa en el uso de especies vegetales hiperacumuladoras capaces de absorber y acumular grandes cantidades de elementos traza a partir de los suelos y/o aguas contaminadas, los cuales acaban siendo transferidos a las partes aéreas de las plantas y ha sido considerada como un técnica muy útil en numerosos trabajos (Ernst, 1989; Barceló y Poschenrieder, 2003; Antonsiewicz *et al.*, 2008; Bini, 2010; Preeti y Tripathi, 2011; Rascio y Navari-Izzo, 2011; Sainger *et al.*, 2011; Wahsha y Al-Rshaidat, 2014). La fitoestabilización, por su parte, ha sido empleada de manera eficaz para disminuir la migración y la biodisponibilidad de los metales pesados en el suelo generando así una disminución de los riesgos ambientales y de salud pública (Gujarathi *et al.*, 2005; Doumett *et al.*, 2008; Bolan *et al.*, 2011; Suchkova *et al.*, 2014; Wójcik *et al.*, 2014; Pandey *et al.*, 2015).

La fitoestabilización está siendo utilizada actualmente en el campo de la ingeniería de recuperación o remediación de zonas mineras abandonadas, terrenos industriales, residuos de la metalurgia, sedimentos dragados, lodos en plantas de tratamiento de aguas residuales, suelos contaminados por fenoles y disolventes clorados, etc. (Bolan *et al.*, 2011). Por ejemplo, se ha usado para recuperar y estabilizar suelos afectados por residuos metalúrgicos a pequeña escala en las zonas rurales mediante la introducción de una cubierta vegetal, con el fin de estabilizar los residuos, reducir la erosión hídrica y eólica y evitar la dispersión de contaminantes de metal (Wójcik *et al.*, 2014).

La fitoextracción permitiría la reutilización del suelo tratado con un fin agrícola, forestal, hortícola o lúdico, evitando la transferencia de éstos a aguas subterráneas o a zonas cercanas por acción del viento y/o erosión del agua (Pandey *et al.*, 2015).

Durante las últimas décadas se ha incrementado el interés en las plantas que pueden acumular y tolerar cantidades inusualmente altas de elementos traza en los tejidos de su parte aérea; las investigaciones con estas plantas, llamadas “hiperacumuladoras” cuando bioacumulan cantidades extraordinariamente elevadas y “tolerantes” cuando toleran substratos altamente contaminados sin manifestar grandes efectos, se han multiplicado por su potencial utilidad para el hombre como herramienta en la limpieza y/o la estabilización de suelos contaminados (Salt *et al.*, 1998; Doumett *et al.*, 2008). No obstante, hay todavía muchas cuestiones sin resolver en relación a los mecanismos y estrategias que utilizan estas plantas en los ambientes contaminados (Baker *et al.*, 2000; Macnair, 2003).

Existe una relación directa entre las características químicas del suelo, la concentración de metales pesados y metaloides, y las respuestas morfológicas y bioquímicas de las plantas, sin embargo, las respuestas metabólicas y fisiológicas de las plantas a la concentración de los elementos traza pueden ser vistas como posibles cambios adaptativos de las plantas durante el estrés, en las últimas décadas se han realizado muchos estudios centrados en el uso potencial de las plantas silvestres que espontáneamente pueden colonizar las zonas contaminadas (Antonsiewicz *et al.*, 2008).

La selección de plantas tolerantes para la restauración del suelo suele ser un hecho crucial para la fitorremediación sostenible; resulta de gran importancia el poder desarrollar una cubierta vegetal autosostenible con un bajo coste y con capacidad para reducir la toxicidad debida a los elementos traza (Pandey *et al.*, 2015). Un ejemplo de esta vegetación tolerante a las elevadas concentraciones de elementos tóxicos en los suelos lo constituyen las formaciones vegetales colonizadoras de los ambientes de minería metálica, en donde se suele encontrar un elevado número de taxones vegetales potencialmente útiles en las tareas de fitorremediación (Molitor *et al.*, 2005). En este sentido, hay que destacar el hecho de que aún a pesar de que la diversidad vegetal y la presencia de genes implicados en la tolerancia a metales suele ser baja, la alta presión selectiva que suponen estos suelos posibilita la selección de poblaciones con tolerancias mucho mayores a las mostradas por otras poblaciones de su misma especie (Baker, 1981; Baker y Proctor, 1990; Wu, 1990; Shu *et al.*, 2002; Molitor *et al.*, 2005). Por lo tanto, la conservación de la diversidad

genética de estas especies es de enorme importancia para fines de fitorremediación (Bech *et al.*, 2012a, 2012b).

A la luz de lo anteriormente expuesto, resulta comprensible el hecho de que gran parte de las investigaciones actuales en este campo se concentren en especies de plantas colonizadoras de ambientes fuertemente contaminados durante un período prolongado, ya que estas características ambientales van a determinar la selección y manifestación de estrategias de adaptación al estrés ambiental provocado por las altas concentraciones de elementos traza (Fischerová *et al.*, 2006). Debido a que estos taxones que colonizan de forma espontánea los ambientes fuertemente contaminados se encuentran bien adaptados a las condiciones particulares de estas zonas, el conocimiento de la diversidad vegetal de estas áreas contaminadas nos puede ayudar a una mejor comprensión de las estrategias de adaptación de estas especies especialmente adaptadas (Pandey *et al.*, 2015).

3.1.3. INTERÉS DE LOS ESTUDIOS SOBRE PLANTAS CON CAPACIDAD FITORREMEIADORA EN LA REPÚBLICA DOMINICANA

Es poca la información disponible sobre la vegetación natural que coloniza los suelos contaminados en países de América Central y del Sur. En general, el impacto ambiental de las minas en Europa y América del Norte se ha evaluado en detalle, pero por el contrario, los datos sobre la evaluación del impacto de las actividades mineras, u otras actividades contaminantes, siguen siendo muy pobres en los países del Caribe y de América del Sur; hay varios factores que hacen que los trabajos de campo en estas zonas resulten extremadamente difíciles, tales como el acceso remoto a las zonas contaminadas o la pobreza de estos países; como resultado, sólo se han muestreado y analizado unas pocas especies de plantas tolerantes a elementos traza dentro de áreas contaminadas de América Central y del Sur (Bech *et al.*, 2014).

Como se ha indicado en el capítulo 2 de esta memoria, apartado 2.1, la ciudad de Haina es un enclave con un gran desarrollo industrial que alberga a más de un centenar de industrias, así como una Refinería de Petróleo, y dado que fueron instaladas sin observar las reglas ambientales, ha sido catalogada como una de las diez localidades más contaminadas del mundo (Blacksmith Institute, 2010, 2014; McCartor y Becker, 2010).

La metalurgia y la actividad industrial en la zona de Haina han sido de gran importancia para el desarrollo de la economía del municipio, sin embargo, los materiales de desecho generados en estos procesos son escorias, residuos de filtro y colas que se han depositado en las zonas circundantes sin ningún tratamiento; las zonas de desechos industriales se caracterizan por presentar concentraciones extremadamente altas de residuos enriquecidos en metales y metaloides, que son a menudo inestables y que causan la dispersión de estos elementos traza en el suelo, aguas superficiales y subterráneas, lo que supone un riesgo para el medio ambiente y la salud ambiental de estas zonas (Cai *et al.*, 2009b; Dong *et al.*, 2012; Santos-Jallath *et al.*, 2012; Wójcik *et al.*, 2014).

3.1.4. ESTUDIOS A PROMOVER EN EL CAMPO DE LA FITORREMEDIACIÓN SOBRE LA VEGETACIÓN NATURAL DEL ENTORNO DEL ÁREA INDUSTRIAL DE HAINA, REPÚBLICA DOMINICANA

En el campo de la fitorremediación, las investigaciones actuales se concentran normalmente en las especies de plantas silvestres, en zonas contaminadas durante un período prolongado y con estrategias de adaptación al estrés ambiental (Fischerová *et al.*, 2006). A pesar de que estas plantas que colonizan de forma espontánea los depósitos de residuos estén bien adaptadas a las condiciones particulares de la zona y a la concentración de metales, la fitodiversidad de estas zonas contaminadas puede ayudar a entender las estrategias de adaptación de las especies vegetales que ocurren espontáneamente en los vertederos de residuos y ser útil para la recuperación de suelos contaminados, así como al establecimiento de un nuevo ecosistema en estas zonas (Pandey *et al.*, 2015). A este respecto, las comunidades nativas presentes en zonas de desechos metálicos abandonados representan una valiosa fuente de especies, bancos de semillas y bancos de genes para las fitotecnologías ambientales (Wójcik *et al.*, 2014).

Las especies que crecen naturalmente en los ambientes contaminados han experimentado un proceso de adaptación a la mayor concentración de los metales en los suelos, de tal forma que pueden llegar a acumular estos metales en un grado mayor en diferentes tejidos de la planta (Kumar *et al.*, 2013); asimismo, tienen capacidad de adaptación a las condiciones de contaminación por metales pesados, pudiendo llegar a presentar en sus tejidos acumulaciones multi-metálicas superiores a las plantas normales.

Estas plantas pioneras pueden aplicarse para la restauración de los sitios de desechos industriales metálicos contaminados (Sun *et al.*, 2008).

Por lo general, la escasa vegetación original nativa no es suficiente para establecer una cubierta vegetal lo suficientemente densa y estable como para favorecer la estabilización de los elementos traza y el control de la erosión del suelo; se necesitan, por tanto, medidas de fitorremediación asistida para un mejor manejo *in situ* (Kumar *et al.*, 2013). Por ejemplo, en la superficie desnuda de vertederos de desechos es importante introducir de forma artificial algunas de estas plantas nativas de interés en el campo de la fitorremediación; en la etapa inicial de la remediación, estas especies se deben utilizar para mejorar el estado nutricional e incrementar la cantidad de materia orgánica de los suelos; por otra parte, la inoculación de hongos micorrícicos arbusculares específicos puede ayudar con el aumento de crecimiento de la planta y la absorción de los nutrientes con la reducción de la translocación de metal; el propósito de la fitorremediación asistida es mantener una buena cubierta vegetal, con una alta biodiversidad, a la vez que disminuir los riesgos ambientales derivados de la contaminación edáfica (Pandey *et al.*, 2015).

Las plantas colonizadoras son un recurso valioso para la restauración de lugares contaminados, ya que proporcionan una mejor respuesta y pueden sobrevivir fácilmente en estos ambientes contaminados, en comparación con las especies exóticas introducidas en estos espacios (Bradshaw, 1997; Pandey *et al.*, 2015). Muchos investigadores han evaluado el potencial de fitorremediación de las plantas nativas que crecen en zonas de acumulación de residuos (Dushenkov *et al.*, 1995; Abreu *et al.*, 2008; Jiménez *et al.*, 2011; Pandey *et al.*, 2012; 2014). Otro caso es el mostrado en el trabajo de Luo *et al.* (2015) que evaluaron la capacidad de la especie *Koeleria bipinnata* Franch. a la hora de fitorremediar metales pesados (Mn, Zn, Pb y Cd) en el desierto de Xiangtan, del centro de China. Estos autores encontraron que esta especie presentaba una gran productividad y una buena cantidad de biomasa, creciendo en suelos contaminados por diversos metales pesados sin mostrar síntomas de intoxicación, a la vez que presentaba unos importantes valores económicos y ecológicos, actuando como una planta importante para remediar el suelo y ayudar a acelerar la sucesión ecológica en la área. Por su parte, Nadgórska-Socha *et al.* (2015) investigaron especies metalófitas y pseudometalófitas que aparecen de forma espontánea en zonas con suelos afectados y no afectados por contaminación metálica en el sur de Polonia, identificando diferentes acumuladores de metal, excluidores de metal e indicadores de metal y encontrando que algunas de estas especies que se desarrollan en

zonas contaminadas suponen unos importantes recursos para el restablecimiento de la vegetación. Por lo tanto, con el fin de adquirir más conocimientos sobre las estrategias y los potenciales de acumulación de elementos traza, y de regeneración de las especies vegetales, es esencial estudiar las comunidades vegetales que aparecen en los suelos contaminados por metales y metaloides (Wójcik *et al.*, 2014; Pandey *et al.*, 2015).

Por otro lado, es importante considerar que para que un proyecto de fitorremediación resulte sostenible, éste debe aportar un alto valor ecológico y socioeconómico que se extienda a lo largo de un gran período de tiempo, razón por la cual resultan preferibles las especies propias de cultivos comerciales y/o energéticos (Wójcik *et al.*, 2014). A este respecto, Pandey *et al.* (2015) presentaron un diagrama conceptual sobre la fitorremediación sostenible, en el que se enumeran algunas plantas como el vetiver (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash), la hierba de limón (*Cymbopogon flexuosus* Nees *ex* Steud.) Will. Watson) y la albahaca (*Ocimum basilicum* L. var. *pilosum* (Willd.) Benth.), que son tolerantes al estrés en la naturaleza y contienen aceites libres de metales pesados. También citan estos autores algunos cultivos energéticos prometedores como *Jatropha curcas* L., *Miscanthus giganteus* J.M. Greef & Deuter *ex* Hodk. y Renvoize y *Ricinus communis* L, que pueden ser utilizados para la generación de energía, la producción de carbón vegetal, biocombustible, celulosa, fibra, etc.; además, estos cultivos recomendados presentan ventajas relativas a la mejora de la calidad del sustrato, estética ecológica, conservación de la biodiversidad, el secuestro de carbono, etc. (Nsanganwimana *et al.*, 2014; Pandey *et al.*, 2015). Estas especies citadas son, además, perennes, lo que asegura los servicios de los ecosistemas sostenibles y a la vez que generan un ambiente libre de contaminación, lo que resulta ser una ventaja competitiva en comparación con la fitorremediación clásica y sencilla. Sin embargo, todavía se necesitan investigaciones para resolver problemas tales como la promoción tecnológica y la mercantilización, la aceptación pública, la regulación tecnológica y el acceso a los mercados de este producto; en cualquier caso, se requiere con cierta urgencia el implementar un enfoque holístico de este tema, que permita afrontar el reto de la implementación de la fitorremediación de metales pesados en los terrenos contaminados (Pandey *et al.*, 2015).

En relación a estudios de este tipo en Centro y Sur América y en el Caribe, son muy pocos los estudios llevados a cabo hasta el momento, pudiendo citar a autores como Santos-Jallath *et al.* (2012) para México, Bech *et al.* (2002) para América del Sur, y a Yoon *et al.* (2006) y Sánchez Pinzón (2010) para el área caribeña y tropical de

Centroamérica. Por su parte, y a fecha de hoy, en la República Dominicana, la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados no se ha estudiado en las zonas severamente contaminadas.

Los problemas de los vertederos de desechos en las zonas rurales y urbanas son los riesgos a los que se ven expuestos los residentes y trabajadores que frecuentan estas zonas, debido a la toxicidad de los lixiviados que se generan y que suelen estar enriquecidos en elementos tóxicos que acaban, tanto en las aguas superficiales como en las subterráneas durante la temporada de lluvias, así como a consecuencia de la dispersión de estos elementos traza mediante la dispersión eólica y atmosférica. En cualquier caso, la existencia de este riesgo potencial hace necesaria la identificación de los enclaves contaminados por elementos tóxicos en el entorno de los enclaves industriales y/o mineros, siendo este un paso crucial para reducir el riesgo ecológico y de salud ambiental asociado a las zonas contaminadas de la República Dominicana (Blacksmith Institute, 2010, 2014; McCartor y Becker, 2010; El Nacional, 2013).

Hasta el momento no se han realizado estudios previos sobre las concentraciones de elementos traza presentes en plantas nativas del entorno del enclave industrial de la ciudad de Haina. El presente capítulo trata de identificar y caracterizar las especies vegetales dominantes en el emplazamiento de la antigua fábrica de reciclaje de baterías de Pb ácido que operó durante durante varias décadas pasadas, con el fin de proceder a su evaluación en función de su tolerancia y acumulación de los elementos traza tóxicos presentes en la zona, con particular incidencia en el Pb. Estos niveles de tolerancia y bioacumulación de elementos potencialmente nocivos nos permitirá discutir sobre su potencial uso en tareas de fitorremediación (fitoestabilización, fitoextracción, etc.).

Por tanto, el objetivo del presente estudio ha sido caracterizar la acumulación de Pb y otros elementos traza, tales como Zn y Cr, en especies silvestres recolectadas en el entorno de la zona de Haina (República Dominicana) con el fin de hacer una primera evaluación de su potencial para ser utilizadas en un futuro programa de fitorremediación.

3.2. MATERIAL Y MÉTODOS

3.2.1. ESPECIES VEGETALES OBJETO DE ESTUDIO

Para conocer la fitodiversidad natural de áreas contaminadas, se inspeccionó la composición específica de la flora vascular en los alrededores de la zona de Haina contaminada por la antigua fábrica de baterías (las características de la zona de estudio y los puntos de muestreo fueron descritos en el capítulo 2 de la presente memoria, apartado 2.2.1, Figura 2.1).

Tras el reconocimiento inicial de la flora vascular de la zona de Haina se obtuvo un rico catálogo florístico, del que finalmente, siguiendo las recomendaciones de Bech *et al.* (2002), se seleccionaron siete especies en función de su mayor abundancia y constancia en las localidades estudiadas.

Estas especies se desarrollan en condiciones antrópicas y se encuentran a orillas de carreteras, caminos, río, cerca de viviendas, en cultivos de interés agrícola o en bosques naturalizados. Ninguna de ellas es utilizada por la población como comestible o para cualquier otro uso.

Las especies escogidas, nombres comunes en el área de estudio y las familias a las que pertenecen se enumeran a continuación. Para la nomenclatura se siguió The Plant List (2013).

Acalypha alopecuroides Jacq., Rabo de zorra (Euphorbiaceae)

Achyranthes aspera L., Rabo de gato (Amaranthaceae)

Amaranthus dubius Mart. ex Thell, Bledo blanco (Amaranthaceae)

Bidens pilosa L., Alfiler, Clavelito del monte (Asteraceae)

Heliotropium angiospermum L., Alacrancillo (Boraginaceae)

Parthenium hysterophorus L., Yerba amarga (Asteraceae)

Sida rhombifolia L., Escoba (Malvaceae)

Las características más importantes de cada una de estas especies son las siguientes:

Acalypha alopecuroides (Figura 3.1)

Planta herbácea, anual, erecta, monoica, que alcanza 20–60(–90) cm de altura, generalmente ramificada. Hojas de ovadas a ampliamente ovadas, de 2–8 cm de longitud y 1,5–5 cm de anchura, ápice acuminado, base redondeada (raramente subcordada), pecíolos 0,5–7 cm de longitud, estípulas deciduas. Inflorescencias espigadas, unisexuales; las estaminadas axilares, las pistiladas terminales, brácteas muy densamente agrupadas, con 3–5 lóbulos cada una. Cápsulas 1,1–1,3 mm de longitud y 1,2–1,5 mm de anchura, hispídulas y estipitado-glandulares o glabras; semillas 1,0–1,1 mm de longitud, lisas (Balick *et al.*, 2000).

Achyranthes aspera (Figura 3.2)

Planta herbácea, perenne, erecta, de 2 m de altura. Hojas enteras, opuestas, pecioladas, cortamente acuminadas, verdes por ambas caras. Inflorescencia en espiga terminal estrecha. Flores hermafroditas, con una bráctea y dos bractéolas, de más de 5 mm de longitud. Perigonio de 4-5 tépalos, prácticamente libres, lanceolados, agudos, duros y espinescentes en la fructificación. Estambres 2-5, alternando con pseudoestaminodios, filamentos soldados en la base en una cúpula membranácea. Fruto seco indehiscente rodeado por los tépalos (Huertas-G y Camargo 1976; Burger, 1983).

Amaranthus dubius (Figura 3.3)

Planta herbácea, anual, erecta, de 0,4-1,5 m de altura. Tallo marrón oscuro, verde claro, o verde rojizo. Hojas de ovado-oblongas a ovado-elípticas, las más pequeñas elípticas. Inflorescencias axilares y terminales, las axilares de 2-9 cm de longitud y 0,4-1 cm de anchura, las terminales en espigas de 6-18 (22) cm de longitud, 0,7-2 cm de anchura. Flores masculinas y femeninas con perianto foliáceo compuesto por 5 sépalos de 1-2,5 mm de longitud y 0,5-0,7 mm de anchura, desiguales, espatulados, con una terminación prominente en el ápice. Fruto en utrículo rodeado del perianto, de 1-1,5 mm de longitud, 0,8-1,1 mm de anchura, de corrugado a liso. Semillas de 1-1,2 mm de diámetro, lenticulares en sección transversal, de color vino tinto oscuro a marrón (Martorell *et al.*, 1981; Grubben *et al.*, 2004).

Bidens pilosa (Figura 3.4)

Planta herbácea, anual, erecta, de 0,2-1,6 m de altura, ramificada; ramas cuadrangulares, de pilosas a glabras. Hojas opuestas, pecioladas, las superiores constituidas por 1-3 pares de pinnas con los folíolos ovados o lanceolado-ovados, aserrados; las hojas inferiores por lo general no divididas; pecíolos 1-6,5 cm de longitud. Capítulos 7-10 mm de diámetro en la anthesis, solitarios, sobre pedúnculos de 5-10 cm de longitud; involucre biseriado, acampanado; brácteas externas lineales, foliáceas, las internas lanceolado-oblongas, escariosas, glabras; receptáculo paleáceo. Capítulos heterógamos, radiados, en algunos casos homógamos y discoideos por ausencia de flores líguladas; corola de las lígulas con tubo de 1-1,5 mm de longitud y lámina oblonga de 5-12 mm de longitud; flores en flósculo hermafroditas, corola tubulosa de unos 4 mm de longitud. Cipselas lineales, tetragonales o subcomprimidas, glabras hacia abajo y tuberculado-estrigosas hacia arriba, 4-16 mm de longitud; papus constituido generalmente por 2-3 aristas de 2-4 mm de longitud, en casos excepcionales aristas del papus en número de 3-5 (Aristeguieta, 1964).

Heliotropium angiospermum (Figura 3.5)

Planta herbácea o sufruticosa, perenne, erecta, de 15-80 cm de altura. Tallos de color verde pálido, de moderada a escasamente pubescentes. Hojas alternas, pecioladas, ovadas a lanceoladas, de 1,5-9 cm de longitud y 0,7-4 cm de anchura, las dos superficies esparcidamente pubescentes con tricomas adpresos a extendidos, especialmente a lo largo de los nervios, a menudo con cistolitos, distribuidos uniformemente, pecíolo de 4-15 mm de longitud. Inflorescencia terminal, cimosa, solitaria o en pares, sin brácteas; flores 20-90 por cima, sésiles; sépalos del cáliz lanceolados, de 0,9-2 mm de longitud, subiguales o el más grande dos veces el tamaño del más pequeño, 0,5-1 mm de anchura; corola blanca, infundibuliforme, el tubo de 1,2-2,0 mm de longitud, el limbo de 1,8-3,3 mm de diámetro, pétalos de prominentes a indistintos, amplios y redondeados, 0,3-0,6 mm de longitud. Fruto fuertemente comprimido en forma lateral, bilobado, 2,0-3,0 mm de grueso, 1,0-2,0 mm de altura, de poco a muy rugoso, densamente cubierto por vesículas pequeñas, infladas; clusas 2, cada una con 2 semillas (Nash y Moreno, 1981).

Parthenium hysterophorus (Figura 3.6)

Planta herbácea, anual, erecta, de hasta 1 (1,5) m de altura. Tallos por lo general ramificados, estriados, estrigosos. Hojas alternas, pecioladas, hasta 20-30 cm de longitud, de pinnadas a bipinnadas, con folíolos de lineares a lanceolados. Capítulos dispuestos en panículas cimosas por lo general laxas y muy ramificadas, que sobresalen del follaje; involucre anchamente campanulado, de 2-3 mm de longitud; brácteas exteriores 5, elíptico-ovadas o elíptico-obovadas, pilosas en el ápice, persistentes, las interiores 5, suborbiculares, glabras, caen con los aquenios; receptáculo hemisférico, páleas de hasta 1,5 mm de longitud, ensanchadas y pubescentes en el ápice, las exteriores se vuelven corchosas, en forma de capucha; flores liguladas con lámina de la corola de menos de 1 mm de longitud, de truncadas a emarginadas en el ápice; flores en flósculo aproximadamente 60, corolas de casi 1,5 mm de longitud, angostamente infundibuliformes, sin pelos. Cipselas de oblanceoladas a obovadas, de casi 2 mm de longitud, negruzcas, con o sin pelos, (McVaugh, 1984; Rzedowski y Rzedowski, 2001; 2004).

Sida rhombifolia (Figura 3.7)

Planta arbustiva de vida corta o sufruticosa, que se puede portar como anual herbácea bajo determinadas condiciones, hasta de 1,5 m de altura. Tallo principal de hasta 1 cm en diámetro o ramificado cerca de la base, flexible y difícil de cortar o arrancar al igual que las ramas. Hojas alternas, con estípulas subuladas de 5-6 mm de longitud, pecioladas, láminas más o menos rómbicas, a veces ovadas a lanceoladas, de 2,5-9 cm de longitud (más pequeñas hacia la parte superior de la planta), de 2-4 veces más largas que anchas, agudas a algo obtusas, aserradas sobre todo en la mitad superior. Flores solitarias en las axilas de las hojas, más o menos dispersas a lo largo del tallo, generalmente no agregadas en el ápice; pedicelos florales de 1-3 cm de longitud; cáliz de 5-6 mm de longitud, 10 veces costillado en la base, diminutamente puberulento; pétalos de 7-9 mm de longitud, amarillos o amarillo-anaranjados; columna estaminal pubescente. Frutos esquizocárpicos de 4-5 mm de diámetro, de glabros a espinosos, redondos y aplanados, en forma de queso o rueda, carpidios o merantos de 10 a 14, lateralmente reticulados, múticos o con espinas apicales cortas (Fryxell, 1992; 1993).

3.2.2. RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras de plantas fueron recolectadas en las mismas 11 zonas en las que se tomaron las muestras de suelo (véase capítulo 2 de la presente memoria, apartado 2.2.2, Figura 2.2, Tabla 2.1.). Los muestreos se llevaron a cabo entre los meses de abril y junio de 2013.

Una vez identificadas las siete especies seleccionadas en cada zona de muestro, se tomaron tres ejemplares completos de cada especie en cada una de las 11 zonas, por lo que el número de ejemplares recolectados fue de 231. En cada uno de estos ejemplares se separaron las partes subterráneas (raíces) de las partes aéreas (tallos y hojas), por lo que de cada zona se tuvieron finalmente 6 muestras de cada especie. El número final de muestras analizadas fue de 462.

Las muestras de plantas se colocaron en bolsas limpias de plástico debidamente etiquetadas para ser transportadas al laboratorio (Li *et al.*, 2007; Kumpiene *et al.*, 2011).



Figura 3.1. *Acalypha alopecuroides* Jacq. (Fuente: Flora of Kaxil Kiuc Home Page, http://chalk.richmond.edu/flora-kaxil-kiuc/a/acalypha_alopecuroides.html)



Figura 3.2. *Achyranthes aspera* L. (Fuente: Wikipedia, https://es.wikipedia.org/wiki/Achyranthes_aspera)



Figura 3.3. *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell (Fuente: Ecos de Yagua, <http://ecosdeyagua1.blogspot.com.es/2016/04/alimento-y-medicina-pira-bledo-hierba.html>)



Figura 3.4. *Bidens pilosa* L. (Fuente: propia)



Figura 3.5. *Heliotropium angiospermum* L. (Fuente: Jim Conrad's Naturalist Newsletter, <http://www.backyardnature.net/n/07/070602he.jpg>)



Figura 3.6. *Parthenium hysterophorus* L. (Fuente: Cerita-Ceriti, http://theruslans.blogspot.com.es/2014_12_01_archive.html)



Figura 3.7. *Sida rhombifolia* L. (Fuente: Flora de Canarias, http://www.floradecanarias.com/sida_rhombifolia.html)

3.2.3. PROCESADO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS VEGETALES

Las muestras vegetales se lavaron inicialmente con agua del grifo, prestando especial atención a la limpieza de las partes subterráneas. Se utilizó un pincel con el fin de eliminar los restos de tierra y evitar producir daños en las raíces. Posteriormente se enjuagaron dos veces con agua destilada. A continuación, se fragmentaron y se desecaron a 60 °C durante 48 h en estufa. Una vez secas se trituraron en un molino. Del producto obtenido en cada una de ellas se tomaron aproximadamente 5 g de peso seco. Para su pesada se utilizó una balanza de precisión Ohaus, modelo AR2140. Posteriormente se sometieron a digestión en un horno de microondas utilizando una mezcla de HNO₃ (concentración del 65%) y H₂O₂ (concentración del 30%) en una relación de 4:1, respectivamente (Li *et al.*, 2007). La composición elemental se analizó mediante Espectrometría de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES), modelo iCAP 6000 Series de Thermo Scientific (Figura 3.8) en el Laboratorio de Ionómica del CEBAS-CSIC (Murcia). Los resultados se expresaron en ppm (partes por millón) que equivalen a mg/kg.



Figura 3.8. ICP-OES, Modelo iCAP 6000 Series de Thermo Scientific usado en el análisis de las muestras vegetales (Fuente: Francisco T. San Nicolás López, responsable del Servicio de Ionómica del CEBAS-CSIC, Murcia)

El aseguramiento de la Calidad (AQ) y Control de Calidad (CQ) del análisis elemental se evaluó mediante los duplicados, blancos y material certificado de referencia GBW 08505 (IT-Cal 02, Registro de estándares y materiales de referencias, Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria de la República Dominicana para materiales estándar). Las recuperaciones, respecto de los valores del material certificado, en las muestras analizadas oscilaron en el rango 84-110%, y la diferencia porcentual relativa entre los duplicados de la muestra fue inferior al 15%. Se usó agua desionizada (Milli-Q) en todo el estudio. Todos los aparatos de vidrio se lavaron sucesivamente con solución de HNO₃, agua corriente, agua desionizada, siendo los reactivos utilizados de grado analítico.

3.2.4. FACTOR DE BIOACUMULACIÓN Y FACTOR DE TRANSLOCACIÓN

Tanto el Factor de Bioacumulación (FB) de la parte aérea, como el Factor de Translocación (FT), son factores ampliamente utilizados para evaluar la capacidad de asimilación de elementos traza del suelo en los tejidos aéreos de las plantas, así como de sus capacidades de translocación de estos elementos desde la raíz hacia los tejidos de la planta situados sobre el nivel del suelo, respectivamente (Ghosh y Singh, 2005; Padmavathiamma y Li, 2012). El FB de una planta para un elemento determinado es igual a la concentración de este elemento en las partes aéreas, dividido por el contenido de ese mismo elemento en el suelo (Vyslouzilova *et al.*, 2003), mientras que el FT se corresponde con la concentración del elemento traza en los tejidos por encima del suelo dividido por el contenido de ese mismo elemento en las raíces (Sun *et al.*, 2008). Estos enunciados expresados de forma gráfica, quedarían contenidos en las siguientes fórmulas:

$$FB = \frac{C \text{ parte aérea}}{C \text{ suelo}}$$

$$FT = \frac{C \text{ parte aérea}}{C \text{ raíz}}$$

Para el cálculo de los valores del FB y del FT se usó el programa R 3.3.1 (R Development Core Team, 2016) mediante un pequeño programa (*script*) que permitió la computación de todos los valores de forma simultánea y además elaborar los gráficos para visualizar los resultados de forma automatizada mediante el paquete *ggplot2* (Wickham, 2009) disponible en *The Comprehensive R Archive Network* (CRAN) como parte opcional de R.

Estos factores se utilizaron para evaluar la capacidad de fitoextracción de metales pesados de cada especie de plantas nativas. El FB indica la eficiencia de las plantas para la acumulación de metal en los tejidos de la especie desde el entorno circundante, mientras que el FT indica la eficiencia de la planta en la translocación del elemento traza acumulado desde sus raíces hasta los brotes (Ladislav *et al.*, 2012).

3.2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las medidas de estadística descriptiva estándar para las concentraciones de los metales como los valores medios y la desviación estándar se calcularon con el programa R 3.3.1 (R Development Core Team, 2016).

Para determinar si las diferencias en la concentración de metales en comparaciones entre diferentes especies eran significativas, se llevó a cabo una prueba según Kruskal-Wallis (1952). Esta prueba es la alternativa no paramétrica a un análisis de varianza y por lo tanto no depende de la normalidad de los datos. Puesto que este tipo de pruebas demuestra que por lo menos una de las poblaciones tratadas difiere significativamente de las demás en cuanto a su valor esperado, pero no especifica cuántas difieren ni cuáles son, se ha usado la prueba de Conover (Conover y Iman, 1979) para identificar las especies con valores significativamente más altos o bajos en la concentración de metales.

Los cálculos necesarios se llevaron a cabo mediante el paquete *PMCMR* disponible bajo R (Pohlert, 2014).

Para comparar dos muestras relacionadas y determinar si las diferencias entre los valores medios son significativas, como es el caso en las comparaciones entre partes aéreas y raíces de una misma especie, se empleó la prueba de los rangos con signos de Wilcoxon (1945). Se trata de una prueba no paramétrica, y por lo tanto su uso no depende de la forma de distribución de los datos.

Para la presentación visual de los datos estadísticos en forma de diagramas se empleó el paquete ggplot2 (Wickham, 2009) dentro de R 3.3.1 (R Development Core Team, 2016).

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN PLANTAS

La concentración media y desviación estándar en peso seco de elementos traza, expresada en ppm, en las partes aéreas y radiculares de las siete plantas crecidas en la comunidad de Haina se detallan en el Anexo I y Figuras 3.9 y 3.10.

La capacidad de absorción de las diferentes plantas estudiadas varía entre ellas y entre los diferentes elementos de que se trate, si bien para los tres metales estudiados, la capacidad de acumulación de los diferentes taxones siguió el siguiente orden decreciente: Zn, Pb y Cr, algo que resulta consistente con algunos trabajos anteriores (McBride, 2007; Zhuang *et al.*, 2009). Este orden de acumulación de metales refleja, posiblemente, las concentraciones de metales extraíbles presentes en los suelos muestreados. Este hecho también denota que diferentes especies de plantas nativas tienen diferentes habilidades y capacidades para captar y acumular estos metales.

Las plantas que crecen en el área de Haina han acumulado cantidades poco significativas de elementos traza, tanto en las partes aéreas como en las raíces, independientemente de la especie, no mostrando en ningún caso síntomas visibles de intoxicación.

Para determinar si existían diferencias en la acumulación de metales en las diferentes especies y si la acumulación era diferente en la raíz con respecto a la parte aérea, se obtuvo la concentración media de todas las zonas estudiadas para cada una de las partes por separado (aérea y raíz), así como para la planta completa, haciendo en este último caso la media de las concentraciones de la parte aérea y de la raíz (Anexo I).

Todas las especies estudiadas fueron capaces de acumular más Pb en las raíces que en los brotes. Por el contrario, todas las plantas acumularon más Zn en la parte aérea que en las raíces. Mientras que con respecto al Cr, el comportamiento fue más anómalo, ya que

cinco de las siete especies acumularon más en la parte aérea que en las raíces y solamente fue al contrario en *Achyranthes aspera* y *Bidens pilosa*.

La concentración media de Pb en las plantas completas estudiadas (sin distinción entre la parte aérea y la radicular) no fue muy elevada, con valores medios que oscilaron entre 10,15 ppm en *Heliotropium angiospermum* y 17,82 ppm en *Sida rhombifolia*, mientras que en la parte radicular, la concentración media osciló entre 13,24 ppm en *Heliotropium angiospermum* y 25,26 ppm en *Sida rhombifolia*; y en la parte aérea estuvo entre los 7,06 ppm en *Heliotropium angiospermum* y 15,17 ppm en *Acalypha alopecuroides*. Los valores máximos más destacables en localidades concretas, considerando las diferentes zonas estudiadas, fueron los referidos a la parte radicular en la zona 1B (Z1B), que alcanzaron 101,32 ppm en *Sida rhombifolia*. En relación a las zonas con mayor acumulación de Pb por las plantas, fue siempre la Z1B en la que se observaron los datos más elevados, tanto los citados anteriormente para *Sida rhombifolia*, que se dieron en la zona radicular, como los de la parte aérea detectados en *Acalypha alopecuroides*, cuyo máximo ascendió a 46,22 ppm. Por tanto, el contenido en Pb de los brotes de las especies estudiadas fue menor que el valor umbral utilizado para considerar plantas hiperacumuladoras (1.000 ppm, Baker y Brooks, 1989).

Dado que en algunos puntos de muestreo, las plantas estuvieron expuestas a grandes concentraciones de Pb (véase capítulo 2 de la presente memoria, apartado 2.3.1, Tablas 2.2. y 2.3, en donde se observa que el valor máximo absoluto alcanzado para el Pb fue de 2.452,00 ppm, y que por zonas, en la Z1B, hubo una acumulación media de hasta 1.793,67 ppm de Pb, en la Z1A hasta 970,50 ppm y en la Z2A hasta 512,50 ppm), esto podría significar que estas plantas son capaces de restringir la acumulación de cantidades elevadas de Pb tanto en la parte radicular como en la parte aérea de la planta.

Estos resultados son de gran interés porque el Pb se considera como un metal objetivo al llevar a cabo la recuperación del suelo, ya que suele ser bastante inmóvil y no se acumula fácilmente en las partes superiores de las plantas, lo que dificulta su retirada de los suelos contaminados (Yoon *et al.*, 2006). Así, autores como Clemens (2013) han informado de que la translocación de Pb es generalmente pequeña, lo que indica que las plantas no transfieren fácilmente el Pb desde sus raíces hasta los brotes, posiblemente debido a su toxicidad. En cualquier caso, todas estas especies exceden claramente los

valores “normales” máximos de las plantas que crecen en suelos no contaminados y que están por debajo de las 3,8 ppm (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007).

La elevada capacidad de acumulación de metales y metaloides por parte de algunas especies que crecen de forma espontánea en suelos fuertemente afectados por elementos traza, como por ejemplo el Pb, ha sido puesta de manifiesto por diversos autores (Bech *et al.*, 2012a; Clemens, 2013). A este respecto, hay que resaltar el hecho de que en la zona estudiada, incluso en los puntos de muestreo más contaminados, los niveles medios de acumulación en las plantas completas fueron moderadamente bajos (no excedieron los 17,82 ppm), con valores máximos de 25,26 ppm en las partes radiculares y de 15,17 ppm en las aéreas en las diferentes zonas muestreadas, valores que resultaron ser mucho menores que los encontrados en otros taxones vegetales desarrollados en zonas de minería metálica (Bech *et al.*, 2002; García-Salgado *et al.*, 2012; Clemens, 2013). Por lo que podemos expresar que no se puede hablar en ningún caso de la presencia de hiperacumuladores para este metal en la zona de Haina, sino más bien de plantas tolerantes.

Por otro lado, al estudiar los otros dos elementos considerados en este estudio, se han detectado niveles de acumulación igualmente bajos. Así, la concentración de Zn en las plantas completas estudiadas no fue muy elevada, con valores medios que oscilaron entre las 40,86 y las 81,36 ppm en las especies *Achyranthes aspera* y *Acalypha alopecuroides*, respectivamente; las 34,11 y las 78,94 ppm para la parte radicular en *Achyranthes aspera* y *Sida rhombifolia*, respectivamente; y las 47,61 y las 95,78 ppm para la parte aérea en *Achyranthes aspera* y *Acalypha alopecuroides*, respectivamente. Como valores máximos, destaca el valor puntual, referido a la parte aérea, que alcanzó 273,25 ppm, en la Z1B, para la especie *Heliotropium angiospermum*. En relación a las zonas con mayor acumulación de Zn por parte de las plantas, las que presentaron concentraciones medias más elevadas en los brotes fueron, además de la Z1B mencionada, las Z4 y Z3A en *Acalypha alopecuroides* con 160,99 ppm y 132,68 ppm, respectivamente. En relación a los niveles de acumulación de Zn en la parte radicular, los valores máximos aparecieron en las Z2B y Z3A, en *Sida rhombifolia* con 153,34 ppm y *Bidens pilosa* con 142,73 ppm, respectivamente. Diversos autores han descrito la gran capacidad que tienen diferentes especies que crecen en zonas mineras para transferir este elemento desde las raíces hasta sus partes aéreas (González y González-Chávez, 2006).

El contenido en Zn de los brotes de las especies estudiadas fue, también, menor que el valor umbral utilizado para considerar plantas hiperacumuladoras (10.000 ppm, Baker y Brooks, 1989). Las plantas aquí estudiadas son por tanto, especies con potenciales muy inferiores a los ya descritos para otros taxones en la bibliografía especializada (Baker *et al.*, 1991; Brooks, 1998; Bech *et al.*, 2012a). Esto podría significar que estas plantas, sobre todo para el caso de las expuestas a grandes concentraciones de Zn en el suelo, son capaces de restringir la acumulación de cantidades elevadas de este metal, tanto en la parte radicular como en la aérea (véase capítulo 2 de la presente memoria, apartado 2.3.1, Tablas 2.2. y 2.3, en donde se observa que el valor máximo absoluto alcanzado para el Zn fue de 940,00 ppm, y que por zonas, en la Z3B, hubo una acumulación media de Zn de hasta 438,67 ppm, 361,20 ppm en la Z3C y 236,20 ppm en la Z3A). En cualquier caso, todas las especies estudiadas, al menos en su parte aérea, exceden los valores “normales” máximos de las plantas que crecen en suelos no contaminados y que están por debajo de las 47 ppm (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007).

A diferencia de lo que ocurre en otras zonas contaminadas (Kabata-Pendias y Pendias, 1992; Bech *et al.*, 2012a), las especies silvestres que crecen en la zona de Haina no presentaron una gran capacidad de acumulación de Zn. A este respecto, hay que resaltar el hecho de que en la zona estudiada, incluso en los puntos de muestreo con suelos más contaminados por Zn (Z3B, Z3C y Z3A, por ese orden), los niveles medios de acumulación en las plantas fueron moderadamente bajos, con valores por debajo de 95,78 ppm en los brotes y de 78,94 ppm en las raíces, valores que resultaron ser mucho menores que los encontrados en otros taxones vegetales en diferentes zonas de minería metálica (Del Río *et al.*, 2002; Llugany *et al.*, 2009). Por consiguiente, al igual que ocurrió para el Pb, en el caso del Zn tampoco se ha detectado ningún taxón que pudiera considerarse como hiperacumulador para este metal en la zona de Haina, tratándose en todo caso de especies tolerantes a la presencia de este elemento.

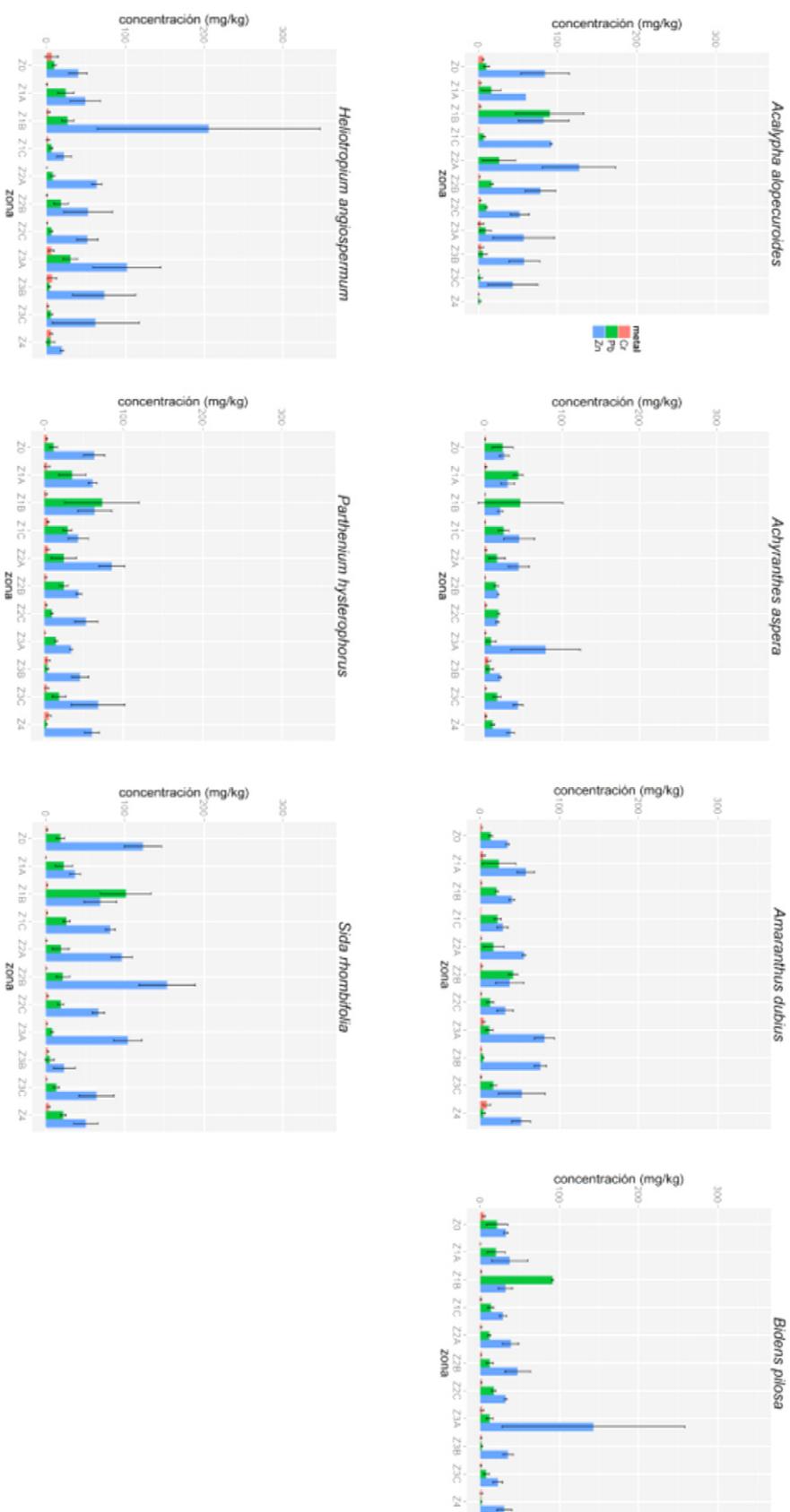


Figura 3.9. Concentración media de elementos traza, con sus correspondientes desviaciones estándar (n= 3) en el sistema radicular por parte de las especies consideradas (*Acalypha alopecuroides*, *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa*, *Heliotropium angiospermum*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*).

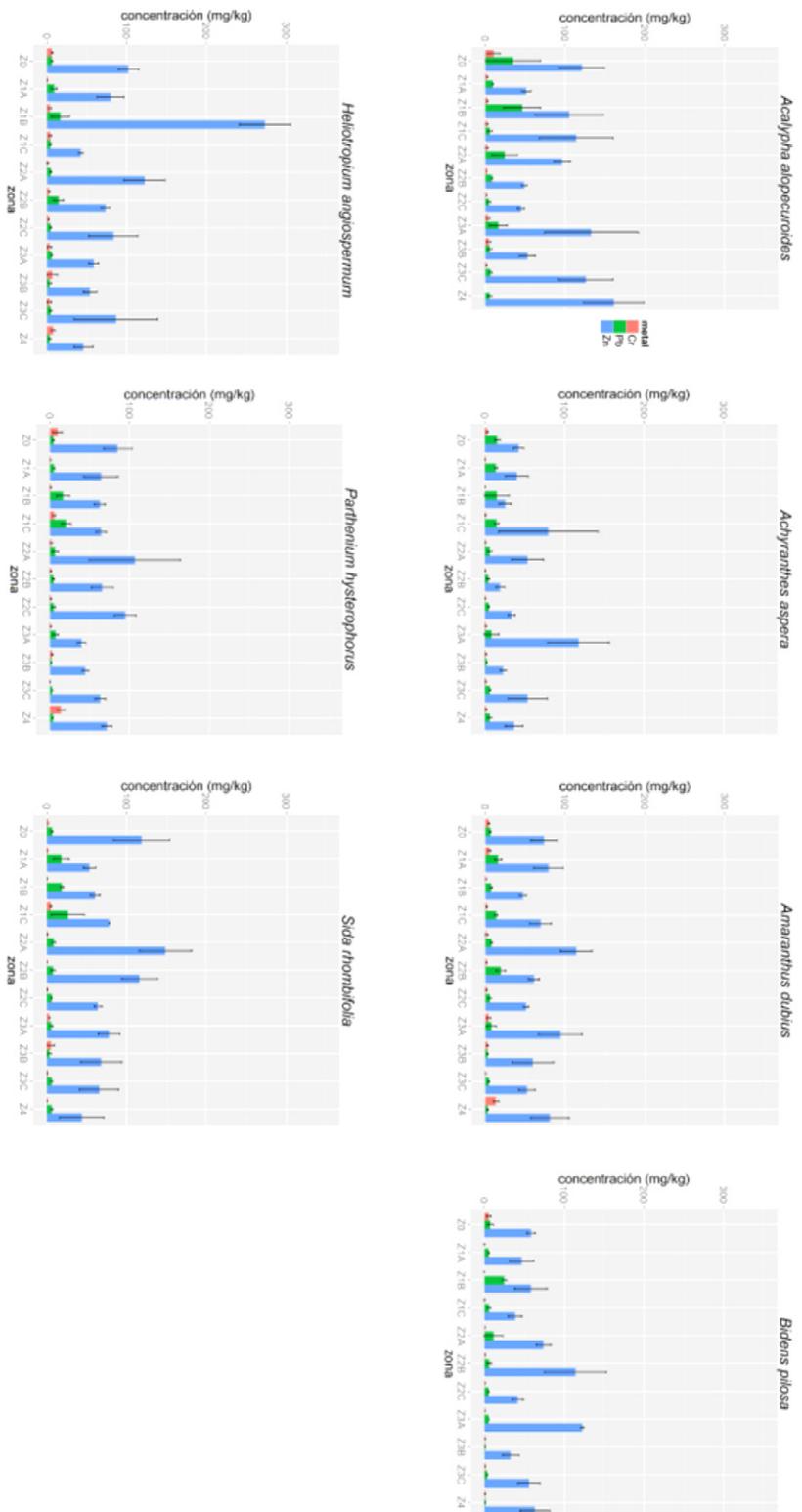


Figura 3.10. Concentración media de elementos traza, con sus correspondientes desviaciones estándar (n= 3) en el sistema aéreo por parte de las especies consideradas (*Acalypha alopecuroides*, *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa*, *Heliotropium angiospermum*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*).

Por último, en relación al Cr, la concentración total de este elemento en las plantas estudiadas no fue muy elevada, con valores medios que oscilaron entre 1,39 y 3,57 ppm para la planta completa en *Achyranthes aspera* y *Parthenium hysterophorus*, respectivamente; 1,67 y 3,48 ppm para la parte radicular en *Bidens pilosa* y *Parthenium hysterophorus*; y en la parte aérea entre 1,10 ppm en *Achyranthes aspera* y 3,67 ppm en *Heliotropium angiospermum* y en *Parthenium hysterophorus*. Como valores máximos, destacan los datos puntuales de 13,82 y 13,18 ppm, en la Z4 en *Parthenium hysterophorus* y *Amaranthus dubiu*, respectivamente, que se dieron siempre en los brotes, mientras que las zonas con mayor acumulación de Cr en las raíces fueron las Z4 y Z3B, con 8,39 ppm en *Amaranthus dubius* y 7,40 ppm en *Heliotropium angiospermum*, respectivamente.

Esto podría significar que estas plantas también son capaces de restringir la acumulación de Cr, sobre todo para el caso de las desarrolladas en zonas expuestas a concentraciones elevadas de este metal en el suelo (véase capítulo 2 de la presente memoria, apartado 2.3.1, Tablas 2.2. y 2.3, en las que se observa que el valor máximo absoluto alcanzado para el Cr fue de 30,00 ppm, y que por zonas, la mayor acumulación media de Cr en el suelo fue de 19,93 ppm en la Z1B, seguida por la Z0 con 19,92 ppm y la Z1A, con 17,60 ppm). Los valores detectados para este metal han sido, en general, todos bajos, tanto en las plantas como en los suelos. A este respecto hay que recordar que el contenido medio en Cr de los suelos del planeta es de 54 ppm (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007), mientras que en la zona de Haina este valor se reduce a menos de 20 ppm.

Para comprobar si existían diferencias en la acumulación de metales en los diferentes tejidos de las plantas, se obtuvo la media de todos los datos de las partes aéreas y de las raíces. El contenido medio de metales en los brotes, considerando los datos de todas las especies estudiadas, fue 3,67 ppm de Cr, 15,17 ppm de Pb y 95,78 ppm de Zn. A su vez, la concentración media de metales en las raíces considerando también los datos de todas las especies estudiadas fue 3,48 ppm de Cr, 25,26 ppm de Pb y 78,94 ppm de Zn.

Así, se pudo comprobar cómo las raíces de las plantas acumularon ligeramente más Pb que los brotes, mientras que las partes aéreas almacenaron más Cr y Zn que las raíces. Sin embargo, la prueba de Wilcoxon (Anexo II), reveló que había diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los brotes y las raíces en el caso del Pb en todas las especies con la excepción de *Acalypha alopecuroides*. En el caso del Cr, las diferencias entre partes aéreas

y raíces sólo resultaron significativas en *Achyranthes aspera*, *Bidens pilosa* y *Parthenium hysterophorus*, con valores de p mayores que en el caso del Pb; mientras que con respecto al Zn, las diferencias entre raíces y brotes fueron significativas en todas las especies salvo en *Acalypha alopecuroides* y *Sida rhombifolia*.

La bibliografía especializada indica que el Cr se acumula, generalmente, en las raíces de las plantas, posiblemente debido a la propensión del Cr^{3+} a ligarse a las paredes celulares, lo que dificulta su transferencia a las partes aéreas del vegetal (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007). No obstante, de los resultados obtenidos en este trabajo, este hecho no es tan evidente, al existir numerosos casos (cinco de las siete especies estudiadas: *Acalypha alopecuroides*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*), en los que las partes aéreas han mostrado valores de concentración de Cr superiores a las radicales. Un hecho a resaltar en relación a este elemento, es que aunque los niveles de acumulación de Cr han sido muy reducidos en todas las especies consideradas, en todos los casos analizados (taxones vegetales y estaciones de muestreo) los niveles de Cr estimados han excedido los valores “normales” máximos de las plantas que crecen en suelos no contaminados y que están por debajo de las 0,41 ppm (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007). Por tanto, al igual que ocurrió para el Pb y el Zn, en el caso del Cr tampoco se ha detectado ningún taxón que pudiera considerarse como un buen acumulador para este elemento en la zona estudiada.

A la vista de estos resultados y considerando el interés de las especies estudiadas dentro del campo de la fitorremediación, parece claro que su mayor utilidad se encontraría dentro del campo de la fitoestabilización, que requiere de especies que sean tolerantes a los sustratos contaminados y que a la vez no acumulen cantidades significativamente altas de elementos traza, características éstas que parecen cumplir estos taxones para los elementos considerados.

En relación a los posibles efectos sobre la cadena trófica de los niveles metálicos de las especies estudiadas, cabe indicar que conforme al Reglamento (UE) N° 1275/2013 de la Comisión, de 6 de diciembre de 2013, por el que se modifica el anexo I de la Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a los niveles máximos de As, Cd, Pb, nitritos, esencia volátil de mostaza e impurezas botánicas perjudiciales, se fija el nivel máximo aceptable en plantas de forraje en 30 ppm, lo que significa que todas las especies consideradas, a excepción de *Acalypha alopecuroides*

serían aptas para su uso en alimentación animal, ya que la acumulación de Pb en su parte aérea no supera dicho valor. Sin embargo, para el caso de la alimentación de las personas, los límites son mucho más estrictos, con valores máximos según la especie que varían entre 0,1 y 0,3 ppm conforme a la Directiva 90/642/CEE del Consejo, modificada en último término por la Directiva 2000/48/CE de la Comisión, excluidas las del género *Brassica* L., las hortalizas de hoja, hierbas y aromáticas frescas y todas las setas con valores máximos de 0,01 ppm, lo que implicaría que todas las especies de plantas estudiadas deberían ser excluidas de la alimentación humana. Lamentablemente, no se disponen de valores máximos de Zn o de Cr en plantas para alimento animal o humano, recogidos en la legislación, por lo que no se pueden hacer comentarios al respecto.

3.3.2. VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA A NIVEL ESPACIAL Y ESPECÍFICO

La acumulación de metales por las plantas que crecen en ambientes contaminados depende de varios factores, tales como las concentraciones de metales y sus formas, el pH del suelo, la materia orgánica del suelo y los tipos de plantas con sus diferentes respuestas fisiológicas ante los procesos de contaminación (Pandey *et al.*, 2012). Las concentraciones metálicas totales, así como sus formas biodisponibles, resultan necesarias para el proceso de translocación de metal desde las raíces hacia sus partes aéreas; a su vez, el pH del suelo es uno de los parámetros más influyentes en el control de la conversión de metales a partir de formas inmóviles de la fase sólida hacia la fase de la solución biodisponible (Sainger *et al.* 2011). A este respecto, estos mismos autores revelaron que los valores de pH elevados podrían conducir a una baja disponibilidad de elementos traza para las plantas, situación que se ha producido en la zona estudiada, donde los valores de pH oscilaron entre 7,50 y 8,94 (Tabla 2.2); a su vez, la materia orgánica también actúa como un factor significativo que contribuye a la biodisponibilidad de los metales pesados en los suelos.

El presente estudio también ha pretendido detectar las posibles diferencias de concentración de los elementos considerados (Cr, Pb y Zn), tanto entre las diferentes estaciones de muestreo (variación espacial), como entre las diferentes especies vegetales consideradas (variación específica). Para ello, se han calculado los valores medios y la desviación estándar de las concentraciones de los metales en cada zona estudiada y en cada una de las plantas consideradas, diferenciando entre la acumulación entre la parte aérea y

la radical, al objeto de poder comparar entre sí tanto las diferentes localidades de estudio, como los diferentes taxones vegetales (Anexo I).

En ambientes sometidos a contaminaciones polimetálicas, como ocurre en la zona de estudio de este trabajo, la absorción y acumulación de elementos traza por las plantas nativas varía para una misma especie entre lugares y elementos, así como entre las diferentes especies, algo que coincide con lo expresado por otros autores (Barrutia *et al.*, 2011; Remon *et al.*, 2013). En general, se observa una buena correspondencia, dentro de los bajos valores de acumulación detectados, entre los mayores niveles de Pb y Zn en los suelos y una mayor acumulación de estos metales en las propias plantas, de tal forma que generalmente los valores de Pb fueron mayores en las plantas recogidas en Z1B, Z1A, Z2A y Z3A, las cuales tuvieron los mayores contenidos de Pb edáfico, mientras que para el Zn fueron en las zonas Z3B, Z3C y Z3A las que presentaron unos mayores niveles de Zn en las plantas y en los suelos.

A su vez, en lo referente a la variación entre especies, en el Anexo I y en las Figuras 3.9 y 3.10 aparecen representados los valores de concentración media de los tres metales estudiados en el sistema radicular y el sistema aéreo, de cada una de las especies estudiadas. Por otro lado, en el Anexo III se indican los valores de *p* obtenidos mediante la prueba de Conover en comparaciones por pares de especies de los valores de acumulación de los tres metales en la parte aérea de las plantas y en la raíz.

Se observa que los rangos de acumulación media de Pb en el sistema aéreo oscilaron entre los siguientes valores en las distintas especies: 4,70-46,22 ppm en *Acalypha alopecuroides*, 2,08-15,38 ppm en *Achyranthes aspera*, 2,95-19,37 ppm en *Amaranthus dubius*, 1,05-24,97 ppm en *Bidens pilosa*, 3,37-16,83 ppm en *Heliotropium angiospermum*, 1,90-20,63 ppm en *Parthenium hysterophorus* y 3,35-26,44 ppm en *Sida rhombifolia*. La prueba de Conover demuestra con respecto al Pb acumulado en las partes aéreas, que son significativas las diferencias entre *Acalypha alopecuroides* y las especies *Bidens pilosa*, *Heliotropium angiospermum* y *Parthenium hysterophorus*; también son significativas las diferencias entre *Sida rhombifolia* con respecto a *Bidens pilosa*, *Heliotropium angiospermum* y *Parthenium hysterophorus*.

En relación a los niveles de acumulación de Pb en las raíces, los valores medios oscilaron para cada especie de la siguiente manera: 1,85-90,39 ppm en *Acalypha alopecuroides*, 6,87-46,48 ppm en *Achyranthes aspera*, 3,93-41,70 ppm en *Amaranthus*

dubius, 1,50-91,43 ppm en *Bidens pilosa*, 3,88-30,32 ppm en *Heliotropium angiospermum*, 2,99-72,99 ppm en *Parthenium hysterophorus* y 5,15-101,32 ppm en *Sida rhombifolia*. La prueba de Conover demuestra con respecto al Pb acumulado en las raíces, que son significativas las diferencias entre *Acalypha alopecuroides* y las especies *Achyranthes aspera*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*; asimismo entre *Bidens pilosa* y *Heliotropium angiospermum*; y finalmente entre *Heliotropium angiospermum* con respecto a *Achyranthes aspera* y a *Parthenium hysterophorus*.

Los rangos de acumulación media de Cr en el sistema aéreo fueron 1,37-10,46 ppm en *Acalypha alopecuroides*, 0,23-2,63 ppm en *Achyranthes aspera*, 0,76-13,18 ppm en *Amaranthus dubius*, 0,21-5,65 ppm en *Bidens pilosa*, 0,71-7,78 ppm en *Heliotropium angiospermum*, 0,52-13,82 ppm en *Parthenium hysterophorus* y 0,52-5,31 ppm en *Sida rhombifolia*. La prueba de Conover demuestra con respecto al Cr acumulado en las partes aéreas, que son significativas las diferencias entre *Bidens pilosa* con respecto a *Acalypha alopecuroides*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*; por otro lado, *Sida rhombifolia* también muestra diferencias significativas con respecto a *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum* y *Parthenium hysterophorus*; y finalmente entre *Achyranthes aspera* con respecto a *Acalypha alopecuroides*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum* y *Parthenium hysterophorus*;

Los rangos de acumulación media de Cr en las raíces fueron 0,63-6,10 ppm en *Acalypha alopecuroides*, 0,80-4,98 ppm en *Achyranthes aspera*, 1,07-8,39 ppm en *Amaranthus dubius*, 0,41-4,69 ppm en *Bidens pilosa*, 0,39-7,40 ppm en *Heliotropium angiospermum*, 1,18-5,89 ppm en *Parthenium hysterophorus* y 0,58-3,89 ppm en *Sida rhombifolia*. La prueba de Conover demuestra con respecto al Cr acumulado en las raíces, que sólo son significativas las diferencias entre *Parthenium hysterophorus* y todas las demás especies.

Los rangos de acumulación media de Zn en el sistema aéreo fueron 44,75-160,99 ppm en *Acalypha alopecuroides*, 19,06-117,57 ppm en *Achyranthes aspera*, 47,17-113,97 ppm en *Amaranthus dubius*, 32,78-122,69 ppm en *Bidens pilosa*, 45,70-273,25 ppm en *Heliotropium angiospermum*, 39,90-106,72 ppm en *Parthenium hysterophorus* y 43,97-148,76 ppm en *Sida rhombifolia*. La prueba de Conover demuestra con respecto al Zn acumulado en las partes aéreas, que son significativas las diferencias entre *Achyranthes*

aspera y todas las demás especies; asimismo entre *Bidens pilosa* y *Acalypha alopecuroides*, *Heliotropium angiospermum* y *Sida rhombifolia*.

Los rangos de acumulación media de Zn en las raíces fueron 43,65-127,29 ppm en *Acalypha alopecuroides*, 16,56-78,93 ppm en *Achyranthes aspera*, 28,56-81,11 ppm en *Amaranthus dubius*, 22,49-142,73 ppm en *Bidens pilosa*, 19,77-205,46 ppm en *Heliotropium angiospermum*, 33,88-85,14 ppm en *Parthenium hysterophorus* y 23,15-153,34 ppm en *Sida rhombifolia*. La prueba de Conover demuestra con respecto al Zn acumulado en las raíces, que *Achyranthes aspera* y *Bidens pilosa* se diferencian de manera significativa con respecto a todas las demás especies, salvo entre ellas; por otro lado *Amaranthus dubius* se diferencia de *Acalypha alopecuroides* y de *Sida rhombifolia*; y finalmente hay diferencias significativas entre *Heliotropium angiospermum* y *Sida rhombifolia*;

Por tanto, parece concluirse de estos resultados que *Acalypha alopecuroides* es la especie con un mejor nivel de acumulación de Pb en sus tejidos aéreos, posiblemente seguida a cierta distancia por *Sida rhombifolia*. Respecto de la parte radicular, que es la más importante con diferencia en relación a la acumulación de Pb, nuevamente *Acalypha alopecuroides* y en menor medida *Sida rhombifolia*, se han manifestado como los taxones más eficientes a la hora de su bioacumulación, seguido a cierta distancia por *Achyranthes aspera* y *Parthenium hysterophorus*.

A su vez, en el caso del Cr, para los niveles de acumulación aérea los mayores valores se encontraron en *Acalypha alopecuroides*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*. A su vez, en relación a los niveles de acumulación radicular, el taxón más resaltante ha sido *Parthenium hysterophorus*.

Finalmente, en el caso del Zn, en relación a los niveles de acumulación aérea los mayores valores se encontraron en *Achyranthes aspera*, *Acalypha alopecuroides*, *Heliotropium angiospermum* y *Sida rhombifolia*. Por otro lado, respecto de los niveles de acumulación radicular, el taxón más resaltante ha sido *Heliotropium angiospermum*, conjuntamente con *Sida rhombifolia* y *Acalypha alopecuroides*.

Por tanto, se observa un comportamiento específico diferencial en función del metal y de la parte de la planta de que se trate, bastante variado, si bien con la salvedad de tratarse, en todos los casos, de niveles moderados o bajos de bioacumulación metálica.

3.3.3. BIOACUMULACIÓN Y TRANSLOCACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN PLANTAS

Los estudios llevados a cabo con la vegetación de Haina, además de evaluar la cantidad de metal acumulado por los diferentes taxones considerados, abordaron el análisis de sus tasas de bioacumulación y fitoextracción de Cr, Pb y Zn.

La potencialidad para labores de fitoextracción de las plantas se puede estimar mediante el cálculo del FB y del FT, de tal forma que aquellas especies que presenten ambos factores $> 1,0$ se consideran, con carácter general, adecuadas para la fitoextracción (Pilon-Smits, 2005), mientras que si son $< 1,0$ y además resultan ser tolerantes a los substratos contaminados, su vocación sería mayormente para labores de fitoestabilización. El índice FT nos va a proporcionar información acerca de la eficiencia de las especies para translocar metales pesados a sus partes aéreas, mientras que el índice FB nos va a proporcionar información acerca de la capacidad de los diferentes taxones para reconcentrar elementos traza en sus tejidos a partir de concentraciones edáficas de estos elementos, en muchos casos, inferiores.

En este sentido, autores como Singh *et al.* (2010), pusieron de manifiesto que $FB > 1,0$ indica una habilidad especial de las plantas para extraer metales y transportarlos desde el sustrato hasta la planta; tales especies podrían ser consideradas como hiperacumuladoras, pudiendo tener aplicaciones dentro del campo de la fitoextracción de metales. A su vez, Singh *et al.* (2010) expresaron que $FT > 1,0$ es un rasgo característico de las especies acumuladoras de metal, mientras que $FT < 1,0$ representa una característica de las especies de plantas excluidoras de metal. A este respecto, las diferentes especies de plantas consideradas en la zona de estudio han mostrado diferentes grados de translocación de metal de las raíces a los brotes.

En el Anexo IV se muestran los valores de FB y FT y la desviación estándar de las siete plantas nativas estudiadas en las 11 zonas estudiadas para los metales de Cr, Pb y Zn. En las Figuras 3.11 y 3.12 se representan dichos valores en cada una de las zonas estudiadas, así como para el conjunto de las localidades. Y en el Anexo V se registran los valores *p* obtenidos mediante la prueba de Conover en las comparaciones por pares de especies de los valores de FT y de FB para los tres metales considerados.

Los valores medios de FT, considerando todas las zonas estudiadas, oscilaron entre 0,82-1,71 para el Cr, entre 0,48-1,82 para el Pb, y entre 1,24-1,87 para el Zn. Por tanto, los

valores más altos de FT se observaron para el Zn y fueron siempre $> 1,0$; mientras que para el Cr, en cinco de las siete especies fue $> 1,0$ (a excepción de *Achyranthes aspera* y *Bidens pilosa*) y para el Pb fue siempre $< 1,0$ excepto en el caso de *Acalypha alopecuroides*. En cuanto a los valores de FB, considerando todas las localidades conjuntamente, oscilaron entre 0,07-0,26 para el Cr, entre 0,10-0,16 para el Pb, y entre 0,60-1,77 para el Zn. Por tanto, fueron siempre $< 1,0$ en el caso del Cr y del Pb, y únicamente en el caso del Zn fueron en casi todas las especies $> 1,0$ (a excepción de *Achyranthes aspera*).

Al analizar en detalle los datos relativos al Cr con respecto al FB, se observa que *Parthenium hysterophorus* tuvo los valores más elevados que el resto, seguido de *Amaranthus dubius* y *Heliotropium angiospermum* (todos ellos en un rango entre 0,26 y 0,24), mientras que *Achyranthes aspera*, *Bidens pilosa* y *Sida rhombifolia* tuvieron los valores más bajos (entre 0,07-0,13) y *Acalypha alopecuroides* mostró un valor intermedio (0,18). Por tanto, en las comparaciones entre especies, *Parthenium hysterophorus* se distingue significativamente de todas las demás menos de *Acalypha alopecuroides*; también son significativas la comparaciones entre *Achyranthes aspera* y *Acalypha alopecuroides*, así como entre *Achyranthes aspera* y *Amaranthus dubius*.

Las especies con los valores de FT más altos para el Cr fueron *Acalypha alopecuroides*, *Amaranthus dubius* y *Heliotropium angiospermum* (entre 1,34 y 1,71), mientras que los valores más bajos se dieron en *Achyranthes aspera*, *Bidens pilosa* y *Parthenium hysterophorus* (entre 0,82 y 1,07). Por tanto se observa que las diferencias entre las especies que forman ambos grupos son significativas.

Para el Pb, con respecto a los valores de FB, se observa que *Acalypha alopecuroides* tuvo los valores más altos (0,29), que *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius* y *Sida rhombifolia* tuvieron valores entre 0,16 y 0,17, y que las otras tres especies presentaron valores más bajos, en un rango entre 0,10 y 0,13. Por tanto al hacer las comparaciones entre especies se observa que *Acalypha alopecuroides* se distingue de forma significativa de *Achyranthes aspera*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*; que ésta última especie se diferencia significativamente tanto de *Bidens pilosa* como de *Heliotropium angiospermum* y que *Heliotropium angiospermum* se diferencia significativamente de *Achyranthes aspera* y de *Parthenium hysterophorus*.

En cuanto a los valores de FT para el Pb, se puede observar que *Acalypha alopecuroides* tuvo los valores más altos (1,82) y el resto de especies mostró valores más

bajos, de las cuales *Heliotropium angiospermum* presentó el segundo valor más alto (0,72) y *Parthenium hysterophorus* el más bajo (0,48), seguido de *Bidens pilosa* (0,54). Los resultados en la comparación entre especies muestran que hay diferencias significativas entre *Acalypha alopecuroides* y todas las demás especies, salvo con *Heliotropium angiospermum*; que ésta última especie se diferencia significativamente de *Achyranthes aspera*, *Bidens pilosa*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*; y finalmente, que hay una diferencia significativa entre *Amaranthus dubius* y *Parthenium hysterophorus*.

Para el Zn, con respecto a los valores de FB, se observa que la especie que presentó los valores más altos fue *Heliotropium angiospermum* (1,77), mientras que los más bajos se dieron en *Achyranthes aspera* (0,60); el resto de especies presentó valores en un rango entre 1,11 y 1,46. En las comparaciones entre especies se observa que tanto *Acalypha alopecuroides* como *Sida rhombifolia* mostraron diferencias significativas con todas las demás especies salvo entre ellas; por otro lado, *Achyranthes aspera* se diferenció significativamente de todas las demás especies salvo de *Bidens pilosa*; y esta última mostró diferencias significativas con respecto a *Heliotropium angiospermum* y *Parthenium hysterophorus*.

En cuanto a los valores de FT para el Zn, los más altos se dieron en *Heliotropium angiospermum* y *Bidens pilosa* (1,87 y 1,75 respectivamente) y los más bajos en *Sida rhombifolia* (1,24); los valores de las demás especies oscilaron entre 1,24 y 1,59. Se observó que *Sida rhombifolia* muestra diferencias significativas con todas las especies salvo con *Acalypha alopecuroides* y *Parthenium hysterophorus*; que también *Acalypha alopecuroides* se distingue significativamente con respecto a *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa* y *Heliotropium angiospermum*; y que también hay diferencias significativas entre *Bidens pilosa* y *Parthenium hysterophorus*.

Estos resultados nos están indicando la existencia de un potencial moderado para el transporte de los metales hacia las partes de la planta por encima del suelo y por encima de los niveles medios de contaminación del suelo. A este respecto, hay que resaltar el hecho de que algunas plantas han desarrollado estrategias para restringir la entrada de metal en la raíz y/o su transporte a los brotes, son las especies llamadas metal-excluyentes (Monterroso *et al.*, 2014). Los bajos valores medios de FB en las partes aéreas en el caso del Cr y del Pb, indican que las especies estudiadas pueden ser consideradas, en su mayoría, como metal-excluyentes.

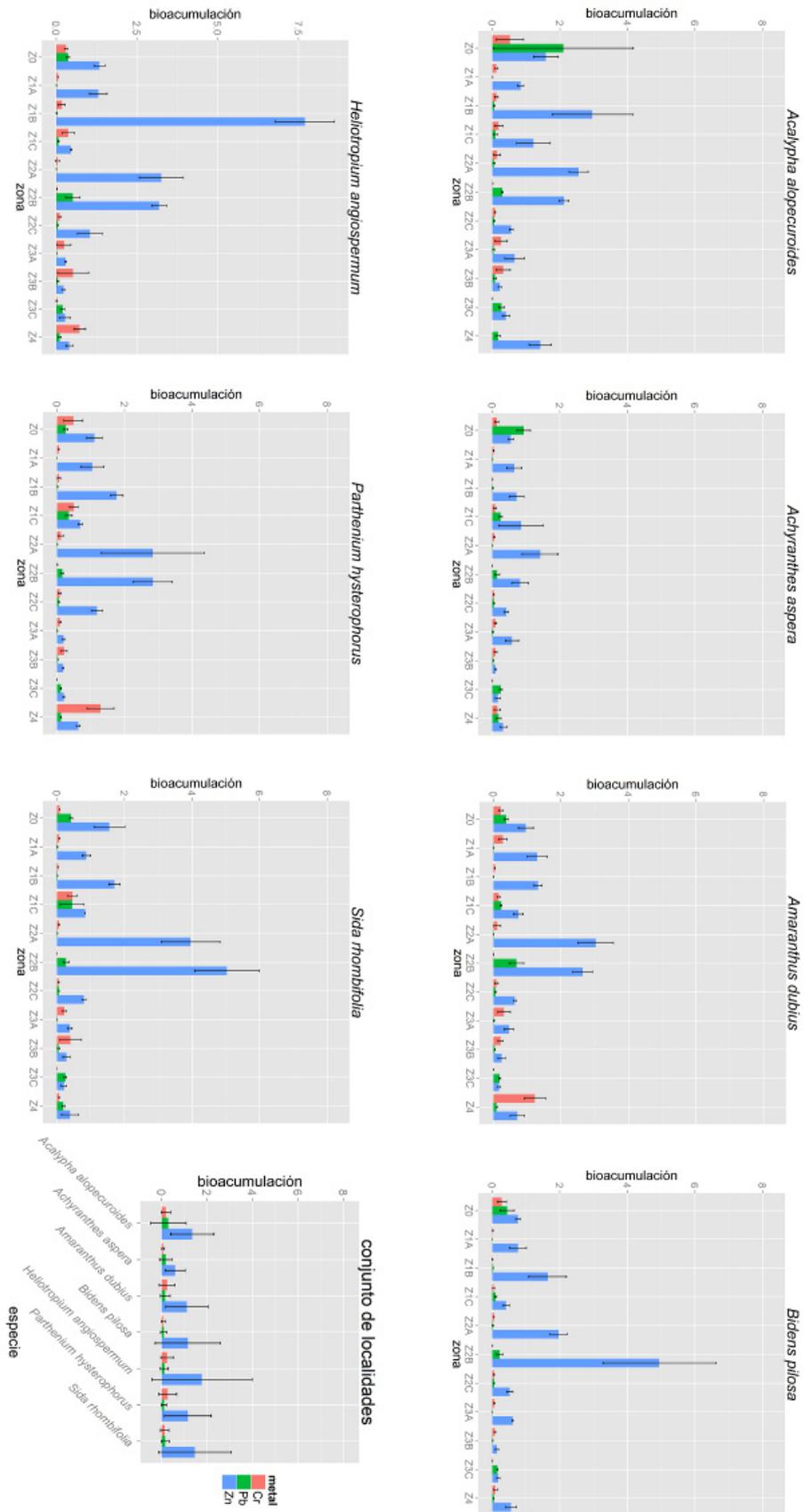


Figura 3.11. Factor de Bioacumulación (FB), de las plantas recolectadas en el área de Haina. Para cada especie se presentan los valores según zona y metal y se indican los valores de la desviación estándar.

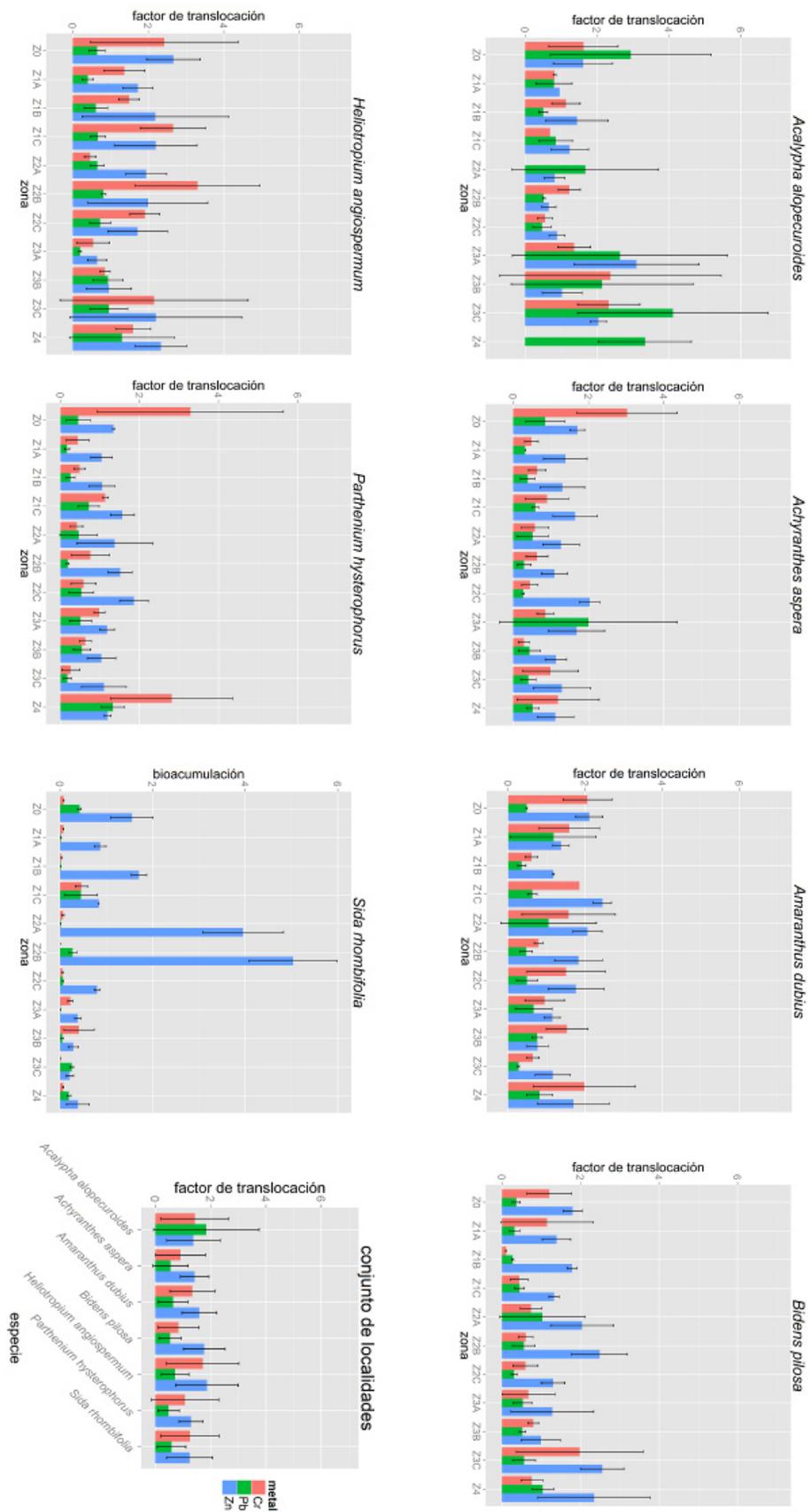


Figura 3.12. Factor de Translocación (FT), de las plantas recolectadas en el área de Haina. Para cada especie se presentan los valores según zona y metal y se indican los valores de la desviación estándar.

Como se ha puesto de manifiesto anteriormente, las concentraciones de Pb en las raíces fueron mayores en casi todas las especies, con respecto a las que presentaron las partes aéreas, Las especies que mostraron una mayor transferencia de Pb fueron *Acalypha alopecuroides*, (1,82) y *Heliotropium angiospermum* (0,72) El resto de especies fueron aún menos eficientes en este proceso de translocación, incluso en el caso de *Parthenium hysterophorus* con valores medios inferiores a 0,5. (Figura 3.12, Anexo IV).

Estos resultados revelan la inexistencia de una absorción y/o translocación activa de Pb hacia los tejidos aéreos de las plantas desarrolladas sobre los suelos contaminados de Haina, lo que es esperable al tratarse de un elemento usualmente poco móvil y asimilable (Blaylock *et al.*, 1997; Huang *et al.*, 1997). Caso muy distinto es el del Zn, que presentó, por lo general, en las partes aéreas valores superiores a los de las raíces. Así, entre las especies con una mayor translocación de Zn hacia sus partes aéreas, destacan *Heliotropium angiospermum* con valor medio de todas las localidades de 1,87, seguido por *Bidens pilosa* (1,77) y *Amaranthus dubius* (1,59). Por último, en el caso del Cr, los valores de las partes aéreas fueron superiores a los de las raíces en los casos de *Acalypha alopecuroides* (1,34), *Amaranthus dubius* (1,37), *Heliotropium angiospermum* (1,70), *Parthenium hysterophorus* (1,71) y *Sida rhombifolia* (1,27), mientras que en el resto de especies, los valores de los brotes estuvieron cerca, o bien por debajo de los radiculares.

En resumen, los valores de FT fueron $> 1,0$ para el caso del Zn en seis de los siete taxones estudiados; para el caso del Cr este proceso ocurrió en cinco taxones. En relación al Zn, al igual que ocurre con el Cu y el Mn, cabe indicar que se trata de un micronutriente importante para diversas funciones metabólicas, razón por la cual resulta normal que las plantas lo transporten de una forma eficiente desde las raíces hacia las partes aéreas (Baker *et al.*, 1994; Bech *et al.*, 2016). Por su parte, para el caso del Pb, todos los taxones menos uno presentaron valores de FT $< 1,0$. Hay que tener en cuenta, que el Pb está menos disponible para las plantas que otros elementos traza como el Zn (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007).

Por especies, las que presentaron los mayores valores de FT, considerando los tres metales en su conjunto, fueron *Acalypha alopecuroides*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia*. En relación al FB, en el presente estudio ninguna especie presentó valores $> 1,0$ para el Pb ni el Cr, incluso en ninguna especie el valor medio de todas las zonas estudiadas llegó a ser superior a 0,3. Para el Zn sin embargo, fue $> 1,0$ en todas las especies estudiadas menos en *Achyranthes*

aspera. Los pequeños valores FB se deben, en parte, a las moderadas cargas metálicas de los suelos de la zona de Haina, algo elevadas en algunos casos, así como al hecho de que en el presente estudio se utilizó la concentración total y no la concentración de la fracción metálica extraíble, o disponible, del suelo (Bech *et al.*, 2012b). Por lo tanto, en este caso el FB no ha resultado ser una buena medida de la capacidad de la planta para acumular metales conforme a lo indicado por autores como Reeves (2006).

3.3.4. INTERÉS DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS DENTRO DEL CAMPO DE LA FITORREMEDIACIÓN

La aplicación de las técnicas de fitorremediación, que utilizan especies hiperacumuladoras, ha planteado algunas preocupaciones ambientales relacionadas con la capacidad de invasión y de disrupción de los ecosistemas autóctonos por la introducción de plantas exóticas que pueden alterar las funciones del ecosistema (Delorme *et al.*, 2001). A este respecto, una opción alternativa es localizar especies de plantas hiperacumuladoras nativas de las regiones contaminadas y aplicarlas para la recuperación de suelos en la misma región (González y González-Chávez, 2006). Las plantas candidatas deben ser tolerantes a la contaminación por los metales objeto de estudio, eficientes en su transferencia desde la raíz hasta la parte cosechable, es decir hacia las partes altas de la planta, deben ser colonizadores naturales, perennes en la naturaleza y no palatables para el ganado, además de si es posible generar algún valor económico añadido (Pandey *et al.*, 2015), siendo esta tarea de búsqueda una cuestión fundamental en el ámbito de la descontaminación de suelos afectados por agentes, como por ejemplo los metales pesados. A este respecto, se ha evaluado la eficiencia de siete especies de plantas que dominaron los sitios contaminados en la zona de Haina. Así, estas especies vegetales, *Acalypha alopecuroides*, *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius*, *Bidens pilosa*, *Heliotropium angiospermum*, *Parthenium hysterophorus* y *Sida rhombifolia* pueden ser consideradas como no acumuladoras de metales pesados ni metal-excluyentes, pero sí adecuadas como fitoestabilizadoras, en la medida en la que crecen satisfactoriamente en tierras moderadamente contaminadas sin experimentar enriquecimiento en sus tejidos por bioacumulación, ni tampoco intoxicación (Fischerová *et al.*, 2006).

Como nota de interés sobre este estudio, hay que resaltar el hecho de que las especies aquí consideradas no han sido evaluadas acerca de su capacidad de acumulación y transferencia de elementos traza en ningún estudio previo, con la excepción de *Bidens*

pilosa en relación a su capacidad de acumulación de algunos elementos traza en Medellín, Bogotá (Sánchez Pinzón, 2010) y el norte de China (Sun *et al.*, 2016).

Las concentraciones de metales pesados de las siete especies estudiadas que crecieron en suelos con diferentes grados de contaminación, no mostraron síntomas visibles de intoxicación. Esto supone en estas áreas una ventaja frente a plantas hiperacumuladoras como por ejemplo *Thlaspi caerulescens* J. Presl & C. Presl, que no es normalmente resistente al calor y requiere de bajas temperaturas para promover la floración (vernalización) o frente a otras plantas de elevada biomasa, tales como *Salix humboldtiana* Willd., que acostumbran a requerir un elevado aporte de agua (Barceló *et al.*, 2001).

Las distintas especies mostraron diferentes formas de acumular los metales pesados estudiados. Así, la capacidad de acumular Zn fue más fuerte en las siete plantas analizadas, seguida de Pb y Cr, con acumulaciones de Zn y Cr mayor en las partes aéreas que en las raíces, mientras que para el Pb esta acumulación resultó mayor en las raíces.

Estudios previos (Sun *et al.*, 2016) han puesto de manifiesto que la especie *Bidens pilosa* presenta tolerancia a factores ambientales adversos, rápido crecimiento y alta producción de materia seca. Asimismo, ha sido reportada como hiperacumuladora de Cd, en condiciones semicontroladas (Sun *et al.*, 2008). 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). Esto se debe a que el proceso de absorción en las plantas depende de varios factores que interactúan con las propiedades físicas y químicas de los suelos (Pilon Smits, 2005). En el presente estudio, la concentración de metales en tejidos vegetales fue baja, cuando se comparó con el contenido de metales en los suelos de la zona de estudio en tanto y en cuanto se consideró el contenido metálico total y no la fracción biodisponible.

El estudio reportado por Sun *et al.* (2008) define a *Bidens pilosa* como una especie hiperacumuladora, debido a que la planta acumuló más de 100 ppm de Cd (Baker y Brooks, 1989). En el trabajo de Sánchez Pinzón (2010), *B. pilosa* presentó una alta absorción de Cd y Cr, mientras que para el Pb ésta fue baja, con valores que oscilaron entre 3,2 y 9,9 ppm. A este respecto, hay que tener en cuenta que en el presente estudio, esta especie acumuló en las raíces unas cantidades de Pb que oscilaron entre 1,50 y 91,43 ppm en la parte radicular, con una media en toda la zona de estudio de 19,21 ppm, mientras que

en la parte aérea esta cantidad osciló entre 1,05 y 21,39 ppm, con una media en toda la zona de estudio de 7,16 ppm, lo que supusieron unas cantidades significativamente mayores que las recogidas por Sun *et al.* (2008).

En relación a los potenciales para tareas de fitorremediación de los taxones estudiados, cabe indicar que conforme a Liang *et al.* (2009), los FB altos suelen ser buenos indicadores del potencial de una especie para la acumulación de metales pesados. A este respecto, hay que tener en cuenta que los valores de FB y FT se pueden utilizar para evaluar las capacidades potenciales de las especies vegetales para tareas de fitoextracción y fitoestabilización (Yoon *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2015).

Al comparar entre sí las distintas especies y estaciones de muestreo, se comprueba que los valores de bioacumulación y translocación varían, lo que parece indicar que esta acumulación de elementos difiere en función de las especies, tejidos considerados y emplazamientos (Wang *et al.*, 2015). Por otro lado, hay que resaltar que, todas las especies consideradas tuvieron $FT > 1$ para el Zn, en cinco de las siete especies también lo era en el caso del Cr, y que para Pb fue < 1 en seis de las siete especies. Por lo tanto, en general, estas especies tenían mayor capacidad de tolerancia al Zn y al Cr que al Pb en las muestras analizadas. Esto significa que estas especies podrían disminuir el estrés al Zn y al Cr a través de la translocación de más Zn y Cr desde las raíces hasta las partes aéreas en caso de necesidad (Ahsan *et al.*, 2009, Wang *et al.*, 2015). No obstante, el FB de todas las especies consideradas, en relación a los tres metales estudiados, fue $> 1,0$ en el caso de Zn para seis de las siete especies estudiadas y para el Pb y el Cr fue siempre $< 1,0$ lo que nos habla de la poca capacidad de acumulación de estos taxones para estos dos últimos (Anexo IV, Figuras 3.11 y 3.12).

Sin embargo, es importante recordar que aparte del FB y la capacidad de acumulación, algunos criterios adicionales deben considerarse a la hora de seleccionar las plantas para un proceso de remediación. Así, la extracción de metales pesados en términos de extracción/planta y extracción/m² puede dar una mejor idea en cuanto al potencial fitoextractor de una especie en particular. A este respecto, Chaney *et al.* (1997) concluyeron que el éxito en los procesos de fitoextracción depende de la identificación de especies capaces, no solamente de concentrar metales pesados, sino también para producir abundante biomasa. Así pues, la producción de biomasa puede modificar significativamente la habilidad de la planta para acumular metales pesados. De acuerdo con Liang *et al.* (2009), las plantas que producen gran cantidad de biomasa pueden

compensar esta condición y convertirse en hiperacumuladoras, si se tiene en cuenta la producción de biomasa por unidad de área. No obstante esto, no parece que ninguna de las especies consideradas responda a este carácter de fitoextractor.

A la vista de todos estos resultados se puede concluir que entre las especies de plantas recogidas en Haina, ninguna de ellas puede considerarse hiperacumuladora de Pb, ya que ninguna fue capaz de acumular más de 46,22 ppm de Pb en sus partes aéreas (caso de *Acalypha alopecuroides* en la Z1B), frente a las 1.000 ppm requeridas para responder al carácter de hiperacumulador y no presentar, de forma simultánea, un FT para Pb > 1,0 (Baker y Brooks, 1989; Brooks, 1998; Baker *et al.*, 2000; Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007). Estaríamos hablando, por tanto, de especies de interés desde el punto de vista de la fitoestabilización, pero no desde el punto de vista de la fitoextracción para ambientes contaminados por Pb.

Para el caso del Cr y el Zn, ocurre algo similar pero con algunas diferencias. Así, para el Zn, el valor umbral utilizado para considerar a las plantas como hiperacumuladoras es de 10.000 ppm (Baker y Brooks, 1989), valor muy alejado del máximo encontrado para las especies estudiadas en las partes aéreas (273,25 ppm en *Heliotropium angiospermum* en la Z1B). Para el caso del Cr, no se dispone de valor de referencia para la consideración de plantas como hiperacumuladoras. No obstante, el FT de cinco de las especies consideradas sí que es > 1,0 (en algunos casos llega a 2), lo que significa que estos taxones son capaces de reconcentrar parte del metal en su parte aérea, lo que implica una cierta capacidad fitoextractora, si bien mínima ya que los valores que acumulan son demasiado bajos.

Todos estos datos confirmarían la ausencia de especies hiperacumuladoras entre los taxones evaluados. Sin embargo, a este respecto son necesarias más investigaciones que lleven a cabo evaluaciones en medios controlados, de la capacidad de acumulación y tolerancia de estos taxones vegetales con vistas a su posible uso en el campo de la fitorremediación. Algunas razones que podrían justificar estas investigaciones serían, por ejemplo (Bech *et al.*, 2012b), el poder excluir factores de contaminación externa, como la de la superficie de las hojas, que alteran los resultados finales, así como el comprobar si una alta tasa de bioacumulación de elementos traza no implica reducciones en la tasa de crecimiento de las plantas. En relación a este último aspecto, hay que indicar que un escaso crecimiento de las plantas que presentan grandes cargas metálicas en sus partes aéreas se puede encontrar en especies excluidoras de metal cuando se excede su capacidad para

restringir la absorción de metales y/o almacenamiento por la raíz, debido a la gran disponibilidad de metal en el suelo (Baker y Brooks, 1989).

Por tanto, si el carácter de no hiperacumulador, así como de taxón tolerante a los substratos contaminados se confirmase con estos estudios complementarios para las especies estudiadas, se podría concluir que éstas serían buenas candidatas para propuestas de fitoestabilización, ya que serían capaces de mantener un buen estado general aún creciendo en áreas contaminadas.

3.4. CONCLUSIONES

Sobre la base de los resultados obtenidos, podemos expresar que 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.

En las siete especies estudiadas, tanto en el caso del Cr como del Pb, las concentraciones encontradas en las partes aéreas fueron mucho más bajas que las concentraciones del suelo, como demuestran los valores de bioacumulación. Asimismo, para estos metales se observó una concentración más baja en las partes aéreas que en las raíces, a excepción de *Acalypha alopecuroides*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum* y *Sida rhombifolia* en el caso del Cr. Dicho de otro modo, las concentraciones de estos dos metales en el suelo fueron, como mínimo, más de tres veces más elevadas que las encontradas en las partes aéreas de las plantas investigadas.

Estos datos excluyen prácticamente el uso de todas las especies estudiadas para trabajos de fitoextracción de Pb y Cr. Únicamente en el caso del Zn se observó que casi todas las especies estudiadas, a excepción de *Achyranthes aspera*, acumularon una concentración más elevada en la partes aéreas que en el suelo; asimismo en todas las especies se encontró más Zn en las partes aéreas que en la raíces, lo que podría indicar la posibilidad de que las seis especies restantes pudieran ser usadas para la fitoextracción de este metal.

No obstante, dado que los valores máximos de acumulación observados de Zn en las plantas de la zona de estudio es aproximadamente una cuarta parte de la cantidad necesaria para que una especie sea considerada fitoacumuladora, también puede excluirse su uso para la fitoextracción de Zn.

En relación a la variación espacial de la bioacumulación de los metales estudiados, se observa una buena correspondencia, dentro de los bajos valores de acumulación detectados, entre los mayores niveles de Pb y Zn en los suelos y una mayor acumulación de estos metales en las propias plantas.

Respecto del comportamiento de las diferentes especies a la hora de acumular los metales, se observa un comportamiento específico diferencial en función del metal y de la parte de la planta de que se trate, bastante variado, si bien con la salvedad de tratarse, en todos los casos, de niveles moderados o bajos de bioacumulación metálica.

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 tropicales que pueden ser consideradas como no acumuladoras de metales pesados ni metal-excluyentes, pero sí adecuados como fitoestabilizadores, en la medida en la que crecen adecuadamente en tierras moderadamente contaminadas sin experimentar enriquecimiento en sus tejidos por bioacumulación, ni tampoco intoxicación (Fischerová *et al.*, 2006).

De todas las especies estudiadas en la zona de Haina, que podrían poseer un beneficio para ser usadas como fitoestabilizadores en áreas con características similares enumeradas por orden decreciente de su capacidad de bioacumulación de Pb, debido a que la zona de estudio presenta un fuerte grado de contaminación por este metal, son: *Acalypha alopecuroides*, *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum* y *Sida rhombifolia*, aunque de todas ellas la primera es de menor interés dada su baja producción de biomasa.

3.5. BIBLIOGRAFIA

- Abreu, M.M., Tavares, M.T., Batista, M.J., 2008. Potential use of *Erica andevalensis* and *Erica australis* in phytoremediation of sulphide mine environments: São Domingos, Portugal. *Journal of Geochemical Exploration*, 96, 210–222.
- Adriano, D.C., 2001. Trace elements in terrestrial environments: Biogeochemistry, Bioavailability and Risks of Metals, 2nd Edition. Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg.
- Ahsan, D.A., Del Valls, T.A., Blasco, J., 2009. Distribution of arsenic and trace metals in the floodplain agricultural soil of Bangladesh. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82(1), 11–15.
- Ali, H., Khan, E., Sajad, M.A., 2013. Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere*, 91, 869–881.
- Antonsiewicz, D.M., Escude-Duran, C., Wierzbowska, E., Sklodowska, A., 2008. Indigenous plant species with potential for the phytoremediation of arsenic and metal contaminated soil. *Water, Air, & Soil Pollution*, 19, 197–210.
- Aristeguieta, L., 1964. Compositae (Verbesineae). En: Lasser, T. (ed.), *Flora de Venezuela* 10(2), pp. 495–941. Instituto Botánico, Caracas.
- 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, 811–826.
- 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., Reeves, R.D., McGrath, S.P., 1991. In situ decontamination of heavy metals polluted soils using crops of metal-accumulating plants a feasibility study. En: Hinchee, R.E., Olfenbuttel, R.F. (eds.), *In situ Bioreclamation*, pp. 539–544. Butterworth-Heinemann Publishers, Stoneham, Massachusetts.

- 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 metal-accumulating 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. (eds.), *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water*, pp. 85–107. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.
- Balick, M.J., Nee, M., Atha, D.E., 2000. Checklist of the vascular plants of Belize. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 85, 1–246.
- Barceló, J., Poschenrieder, C., 2003. Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to Science*, 2, 333–344.
- Barceló, J., Poschenrieder, C., Lombini, A., Llugany, M., Bech, J., Dinelli, E., 2001. Mediterranean plant species for phytoremediation. Abstract of the COST Action 837 WG2 on Phytoremediation of trace elements in contaminated soils and waters (with special emphasis on Zn, Cd, Pb, and As). Ed. Universidad Complutense Madrid, pp. 23. Disponible en: <http://lbewww.epfl.ch/COST837/>. Accedido el 22/12/16.
- Barrutia, O., Artetxe, U., Hernández, A., Olano, J.M., García-Plazaola, J.I., Garbisu, C., Becerril, J.M., 2011. Native plant communities in an abandoned Pb–Zn mining area of northern Spain: implications for phytoremediation and germplasm preservation. *International Journal of Phytoremediation*, 13, 256–270.
- 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(1-2), 5–11.
- Bech, J., Duran, P., Roca, N., Poma, W., Sánchez, I., Barceló, J., Boluda, R., Roca-Pérez, L., Poschenrieder, C., 2012a. Shoot accumulation of several trace elements in native plant species from contaminated soils in the Peruvian Andes. *Journal of Geochemical Exploration*, 113, 106–111.

- Bech, J., Duran, P., Roca, N., Poma, W., Sánchez, I., Barceló, J., Boluda, R., Roca-Pérez, L., Poschenrieder, C., 2012b. Accumulation of Pb and Zn in *Bidens triplinervia* and *Senecio* sp. spontaneous species from mine spoils in Peru and their potential use in phytoremediation. *Journal of Geochemical Exploration*, 123, 109–113.
- Bech, J., Abreu, M.M., Chon, H.T., Roca, N., 2014. Remediation of potentially toxic elements in contaminated soils. En: Bini, C., Bech, J. (eds.), *PHEs, Environment and Human Health*, pp. 253–308. Springer, Dordrecht, Heidelberg, New York, London.
- Bech, J., Roca, N., Tume, P., Ramos-Miras, J., Gil, C., Boluda, R., 2016. Screening for new accumulator plants in potential hazards elements polluted soil surrounding Peruvian mine tailings. *Catena*, 136, 66–73.
- Bermúdez, G.M.A., Jasan, R., Rita, P., Pignata, M.L., 2011. Heavy metal and trace element concentrations in wheat grains: assessment of potential non-carcinogenic health hazard through their consumption. *Journal of Hazardous Materials*, 193, 264–271.
- Bini, C., 2010. *From Soil Contamination to Land Restoration*. Nova Science Publisher, New York.
- Blacksmith Institute, 2010. *Top Six Toxic Threats 2010. Used Lead Acid Battery Recycling. Haina Dominican Republic*. Disponible en: <http://www.worstpolluted.org/used-lead-acid-battery-recycling-in-haina-dominican-republic-2010.html>. Accedido el 20/10/2016.
- Blacksmith Institute., 2014. *Project Completion Report: Used lead acid bacteria site remediation*. Disponible en: <http://www.blacksmithinstitute.org/files/FileUpload/files/Haina%20Project%20Completion.pdf>. Accedido el 20/9/2015.
- 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.

- Bolan, N.S., Park, J.H., Robinson, B., Naidu, R., Huh, K.Y., 2011. Phytostabilization: a green approach to contaminant containment. *Advances in Agronomy*, 112, 145-204.
- Bradshaw, A., 1997. Restoration of mined lands – using natural processes. *Ecological Engineering*, 8(4), 255–269.
- Brooks R.R., 1998. *Plants that hyperaccumulate heavy metals*. CAB International, Wallingford.
- Burger, W.C. 1983. Family 64. Amaranthaceae. En: Burger, W.C. (ed.), *Flora Costaricensis*. *Fieldiana, Botany n.s.*, 13, 142–180.
- Cai, Y.P., Huang, G.H., Yang, Z.F., Tan, Q., 2009a. Identification of optimal strategies for energy management systems planning under multiple uncertainties. *Applied Energy*, 86(4), 480–495.
- Cai, Y.P., Huang, G.H., Yang, Z.F., Sun, W., Chen, B., 2009b. Investigation of public's perception towards rural sustainable development based on a two-level expert system. *Expert Systems with Applications*, 36(5), 8910–8924.
- Cardiel, J.M., Muñoz Rodríguez, P., 2012. Synopsis of *Acalypha* (Euphorbiaceae) of continental Ecuador. *PhytoKeys*, 17, 1–17.
- Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Baker, A.J. M., 1997. Phytoremediation of soils metals. *Current Opinion in Biotechnology*, 8, 279–284.
- Chen, L., Luo, S., Li, X., Wan, Y., Chen, J., Liu, C., 2014. Interaction of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake. *Soil Biology and Biochemistry*, 68, 300–308.
- Clemens, S., 2013. Lead in Plants. En: Kretsinge, R.H. (ed.), *Encyclopedia of Metalloproteins*, pp. 1179-1183. Springer, New York.
- Conover, W.J., Iman R.L., 1979. On multiple-comparison procedures. Technical report, LA-7677-MS, Los Alamos Scientific Laboratory, Los Alamos, New Mexico. Disponible en: <http://permalink.lanl.gov/object/tr?what=info:lanl-repo/lareport/LA-07677-MS>. Accedido el 22/12/16.

- Csavina, J., Field, J., Taylor, M.P., Gao, S., Landázuri, A., Betterton, E.A., Eduardo Sáez, A., 2012. A review on the importance of metals and metalloids in atmospheric dust and aerosol from mining operations. *Science of the Total Environment*, 433, 58–73.
- Del Río, M., Font, R., Almela, C., Vélez, D., Montoro, R., De Haro Bailón, A., 2002. Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guadamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. *Journal of Biotechnology*, 98, 125–137.
- Delorme, T., Gagliardi, J., Angle, J., Chaney, R., 2001. Influence of the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl. and the nonmetal accumulator *Trifolium pratense* L. on soil microbial populations. *Canadian Journal of Microbiology*, 47, 773–776.
- Dmuchowski, W., Gozdowski, D., Bragoszewska, P., Baczewska, A.H., Suwara, I., 2014. Phytoremediation of zinc contaminated soils using silver birch (*Betula pendula* Roth). *Ecological Engineering*, 71, 32–35.
- Dong, C., Huang, G.H., Cai, Y.P., Liu, Y., 2012. An inexact optimization modeling approach for supporting energy systems planning and air pollution mitigation in Beijing city. *Energy*, 37(1), 673–688.
- Dong, C., Huang, G.H., Cai, Y.P., Liu, Y., 2013. Robust planning of energy management systems with environmental and constraint-conservative considerations under multiple uncertainties. *Energy Conversion and Management*, 65, 471–486.
- Doumett, S., Lamperi, L., Checchini, L., Azzarello, E., Mugnai, S., Mancuso, S., Petruzzelli, G., Del Bubba, M., 2008. Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: Influence of different complexing agents. *Chemosphere*, 72, 1481–1490.
- Dushenkov, P B.A., Nanda Kumar, H. Motto y I. Raskin., 1995. Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environmental Science & Technology*, 29, 1239–1245.
- El Nacional, 2013. Haina tercera ciudad más contaminada. Disponible en: <http://elnacional.com.do/haina-tercera-ciudad-mas-contaminada/>. Accedido el 12/10/2013.

- Ernst, W.H.O., 1989. Mine vegetation in Europe. En: Shaw, A.J. (ed.), Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects, pp. 21–37. CRC Press Inc., Boca Ratón, Florida.
- Fischerová, Z., Tlustos, P., Száková, J., Sichorová, K., 2006. A comparison of phytoremediation capability of selected plant species for given trace elements. *Environmental Pollution*, 144, 93–100.
- Fryxell, P.A., 1992. Malvaceae. En: Sosa, V. (ed.), Flora de Veracruz, Fascículo 68, pp. 1-50. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz, México. Disponible en: http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/flower/68-fryxell_i.pdf. Accedido el 20/12/2016.
- Fryxell, P.A., 1993. Malvaceae. En: Rzedowski R.J., Calderón de Rzedowski, G. (eds.), Flora del Bajío y de regiones adyacentes, Fascículo 16, pp. 1-174. Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México. Disponible en: <http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumeness/FLOBA/Flora%2016.pdf>. Accedido el 20/12/2016.
- García-Salgado, S., García-Casillas, D., Quijano-Nieto, M.A., Bonilla-Simón, M.M., 2012. Arsenic and heavy metal uptake and accumulation in native plant species from soils polluted by mining activities. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223, 559–572.
- Ghosh, M., Singh, S.P., 2005. A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. *Environmental Pollution*, 133(2), 365–371.
- González, R.C., González-Chávez, M., 2006. Metal accumulation in wild plants surrounding mining wastes. *Environmental Pollution*, 144, 84–92.
- Grubben, G.J.H., 2004. *Amaranthus dubius* Mart. ex Thell. En: Grubben, G.J.H., Denton, O.A. (eds.), PROTA 2: Vegetables/Légumes. [CD-Rom]. PROTA, Wageningen, Netherlands.
- Gujarathi, N.P., Haney, B.J., Linden, J.C., 2005. Phytoremediation potential of *Myriophyllum aquaticum* and *Pistia stratiotes* to modify antibiotic growth promoters, tetracycline, and oxytetracycline, in aqueous wastewater systems. *International Journal of Phytoremediation*, 7, 99–112.

- 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 & Technology*, 31, 800–805.
- Huertas-G, G., Camargo, L.A., 1976. Catálogo Ilustrado de las plantas de Cundinamarca, volumen 3. Universidad Nacional, Instituto de Ciencias Naturales, Bogotá.
- Jamali, M.K., Kazi, T.G., Arain, M.B., Afridi, H.I., Jalbani, N., Kandhro, G.A., 2009. Heavy metal accumulation in different varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in soil amended with domestic sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 164, 1386–1391.
- Järup, L., 2003. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68, 167–182.
- Jiménez, M.N., Bacchetta, G., Casti, M., Navarro, F.B., Lallena, A.M., Fernández-Ondoño, E., 2011. Potential use in phytoremediation of three plant species growing on contaminated mine-tailing soils in Sardinia. *Ecological Engineering*, 37, 392–398.
- Jung, M.C., 2011. Contamination by Cd, Cu, Pb, and Zn in mine wastes from abandoned metal mines classified as mineralization types in Korea. *Environmental Geochemistry and Health*, 30, 205–217.
- Kabata-Pendias, A., Pendias, H., 1992. Trace Elements in Soils and Plants, second ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Kabata-Pendias, A., Mukherjee, A.B., 2007. Trace Elements from Soil to Human. Springer-Verlag, New York.
- Khillare, P.S., Jyethi, D.S., Sarkar, S., 2013. Health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals via dietary intake of vegetables grown in the vicinity of thermal power plants. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 1642–1652.
- Kierczak, J., Potysz, A., Pietranik, A., Tyszka, R., Modelska, M., Néel, C., Ettler, V., Mihaljevič, M., 2013. Environmental impact of the historical Cu smelting in the Rudawy Janowickie Mountains (south-western Poland). *Journal of Geochemical Exploration*, 124, 183–194.

- Kumar, N., Baudhh, K., Kumar, S., Dwivedi, N., Singh, D.P., Barman, S.C., 2013. Accumulation of metals in weed species grown on the soil contaminated with industrial waste and their phytoremediation potential. *Ecological Engineering*, 61(8), 491–495.
- Kumpiene, J., Mench, M., Bes, C.M., Fitts, J.P., 2011. Assessment of aided phytostabilization of copper-contaminated soil by X-ray absorption spectroscopy and chemical extractions. *Environmental Pollution*, 159, 1536–1542.
- Ladislav, S., El-Mufleh, A., Gérente, C., Chazarenc, F., Andrès, Y., Béchet, B., 2012. Potential of aquatic macrophytes as bioindicators of heavy metal pollution in urban stormwater runoff. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223, 877–888.
- Li, M.S., Luo, Y.P., Su, Z.Y., 2007. Heavy metal concentrations in soils and plant accumulation in a restored manganese mineland in Guangxi, South China. *Environmental Pollution*, 147, 168–175.
- Liang, H.M., Lin, T.H.; Chiou, J.M.; Kuo-Chen Y., 2009., Model evaluation of the phytoextraction potential of heavy metal hyperaccumulators and nonhyperaccumulators. *Environmental Pollution*, 157(6), 1945–1952.
- Liu, G., Tao, L., Liu, X., Hou, J., Wang, A., Li, R., 2013. Heavy metal speciation and pollution of agricultural soils along Jishui River in non-ferrous metal mine area in Jiangxi Province, China. *Journal of Geochemical Exploration*, 132, 156–163.
- Llugany, M., Lombini, A., Dinelli, E., Poschenrieder, C., Barceló, J., 2009. Transfer of selected mineral nutrients and trace elements in the host–hemiparasite association, *Cistus-Odontites lutea*, growing on and off metal-polluted sites. *Plant Biology*, 11, 170–178.
- Luo, Z., Tian, D., Ning, C., Yan, W., Xiang, W., Peng, C., 2015. Roles of *Koeleria bipinnata* as a suitable accumulator tree species in remediating Mn, Zn, Pb, and Cd pollution on Mn mining wastelands in southern China. *Environmental Earth Sciences*, 74(5), 4549–4559.
- Macnair, M.R., 2003. The hyperaccumulation of metals by plants. *Advances in Botanical Research*, 40, 63–105.

- Martorell, L.F., Liogier, A., Woodbury, R., 1981. Catálogo de los nombres vulgares y científicos de las plantas de Puerto Rico. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, Estación Experimental Agrícola de Río Piedras.
- McBride, M.B., 2007. Trace metals and sulfur in soils and forage of a chronic wasting disease locus. *Environmental Chemistry*, 4, 134–139.
- McCartor, A., Becker, D., 2010. Blacksmith Institute's world worst pollution problems report 2010. Top six toxic threats. Blacksmith Institute, New York. Disponible en: www.worstpolluted.org. Accedido el 25/10/2015.
- McVaugh, R., 1984. *Compositae. Flora Novo-Galiciana. A descriptive account of the vascular plants of Western Mexico, Vol. 12.* The University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan.
- Minkina, T.M., Motuzova, G.V., Mandzhieva, S.S., Nazarenko, O.G., 2012. Ecological resistance of the soil–plant system to contamination by heavy metals. *Journal of Geochemical Exploration*, 123, 33–40.
- 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.
- Monterroso, C., Rodríguez, F., Chaves, R., Diez, J., Becerra-Castro, C., Kidd, P., Macías, F., 2014. Heavy metal distribution in mine-soils and plants growing in a Pb/Zn-mining area in NW Spain. *Applied Geochemistry*, 44, 3–11.
- Nadgórska-Socha, A., Kandziora-Ciupa, M., Ciepał, R., 2015. Element accumulation, distribution, and phytoremediation potential in selected metallophytes growing in a contaminated area. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187, 441.
- Nash, D.L., Moreno, N.P., 1981. Boraginaceae. En: Sosa, V. (ed.), *Flora de Veracruz. Fascículo 18*, pp. 1-51. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, Xalapa, Veracruz. Disponible en: http://www1.incol.edu.mx/publicaciones/resumeness/FLOVER/18-Nash_I.pdf. Accedido el 28/12/2016.
- Navarro, M.C., Pérez-Sirvent, C., Martínez-Sánchez, M.J., Vidal, J., Tovar, P.J., Bech, J., 2008. Abandoned mine sites as a source of contamination by heavy metals: a case study in a semi-arid zone. *Journal of Geochemical Exploration*, 96, 183–193.

- Nsanganwimana, F., Pourrut, B., Mench, M., Douay, F., 2014. Suitability of *Miscanthus* species for managing inorganic and organic contaminated land and restoring ecosystem services. A review. *Journal of Environmental Management*, 143, 123–134.
- Padmavathiamma, P.K., Li, L.Y., 2012. Rhizosphere influence and seasonal impact on phytostabilisation of metals-a field study. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223, 107–124.
- Pan, Y., Wang, Y., Sun, Y., Tian, S., Cheng, M., 2013. Size-resolved aerosol trace elements at a rural mountainous site in Northern China: importance of regional transport. *Science of the Total Environment*, 461–462, 761–771.
- Pandey, V.C., Singh, K., Singh, R.P., Singh, B., 2012. Naturally growing *Saccharum munja* L. on the fly ash lagoons: a potential ecological engineer for the revegetation and stabilization. *Ecological Engineering*, 40, 95–99.
- Pandey, V.C., Singh, N., Singh, R.P., Singh, D.P., 2014. Rhizoremediation potential of spontaneously grown *Typha latifolia* on fly ash basins: study from the field. *Ecological Engineering*, 71, 722–727.
- Pandey, V.C., Prakash, P., Bajpai, O., Kumar, A., Singh, N., 2015. Phytodiversity on fly ash deposits: evaluation of naturally colonized species for sustainable phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 2776–2787.
- Pilon-Smits, E., 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 15–39.
- Pohlert., T., 2014. The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR). R package. Disponible en: <http://CRAN.R-project.org/package=PMCMR>. Accedido el 28/12/2016.
- Preeti, P., Tripathi, A.K., 2011. Effect of heavy metals on morphological and biochemical characteristics of *Albizia procera* (Roxb.) Benth. seedlings. *International Journal of Environmental Science*, 1(5), 1009–1018.
- R Development Core Team., 2016. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Disponible en: <http://www.R-project.org/>. Accedido el 28/12/2016.

- Rascio, N., Navari-Izzo, F., 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180, 169–181.
- Reeves, R.D., 2006. Hyperaccumulation of trace elements by plants. En: Morel, J.L., Echevarria, G., Goncharova, N. (eds.), *Phytoremediation of Metal-Contaminated Soils*, pp. 25–52. Springer, The Netherlands.
- Remon, E., Bouchardon, J.L., Le Guédard, M., Bessoule, J.J., Conord, C., 2013. Are plants useful as accumulation indicators of metal bioavailability? *Environmental Pollution*, 175, 1–7.
- Rzedowski, G.C. de, Rzedowski, J., 2001. *Flora fanerogámica del Valle de México*. 2ª ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México. Disponible en: http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/Flora_del_Valle_de_Mx1.pdf. Accedido el 28/12/2016.
- Rzedowski, G.C. de, Rzedowski, J., 2004. *Manual de malezas de la región de Salvatierra, Guanajuato. Flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo complementario XX*. Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México. Disponible en: <http://www1.inecol.edu.mx/publicaciones/resumenes/FLOBA/ComplementarioXX.pdf>. Accedido el 28/12/2016.
- Sainger, P.A., Dhankhar, R., Sainger, M., Kaushik, A., Singh, R.P., 2011. Assessment of heavy metal tolerance in native plant species from soils contaminated with electroplating effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 2284–2291.
- Salt, D.E., Smith, R.D., Raskin, I., 1998. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 643–668.
- Sánchez Pinzón, M.S., 2010. *Contaminación por metales pesados en el botadero de basuras de Moravia en Medellín, Colombia: transferencia a flora y fauna y evaluación del potencial fitorremediador de especies nativas e introducidas*. Trabajo de Grado, Pontificia Universidad Javeriana, Gibuj, Bogotá D.C. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/837/cien38.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Accedido el 28/12/2016.

- Santos-Jallath, J., Castro-Rodríguez, A., Huezco-Casillas, J., Torres-Bustillos, L., 2012. Arsenic and heavy metals in native plants at tailings impoundments in Queretaro, Mexico. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 37–39, 10–17.
- 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
- Singh, R., Singh, D.P., Kumar, N., Bhargava, S.K., Barman, S.C., 2010. Accumulation and translocation of heavy metals in soil and plants from fly ash contaminated area. *Journal of Environmental Biology*, 31(4), 421–430.
- Sridhara Chary, N., Kamala, C.T., Samuelm, S.R.D., 2009. Assessing risk of heavy metals from consuming food grown on sewage irrigated soils and food chain transfer. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69, 513–524.
- Suchkova, N., Tsiripidis, I., Alifragkis, D., Ganoulis, J., Darakas, E., Sawidis, T., 2014. Assessment of phytoremediation potential of native plants during the reclamation of an area affected by sewage sludge. *Ecological Engineering*, 69, 160–169.
- Sun, Y., Zhou, Q., Diao, Ch., 2008. Effects of cadmium and arsenic on growth and metal accumulation of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. *Bioresource Technology*, 99, 1103–1110.
- Sun, Z., Chen, J., Wang, X., Lv, C., 2016. Heavy metal accumulation in native plants at a metallurgy waste site in rural areas of Northern China. *Ecological Engineering*, 86, 60–68.
- The Plant List, 2013. Version 1.1. Publicado en Internet. Disponible en <http://www.theplantlist.org/>. Accedido el 16/03/2017.
- Vyslouzilova, M., Tlustos, O., Szakova, J., Pablicova, D., 2003. As, Cd, Pb and Zn uptake by different *Salix* spp. grown at soils enriched by high loads of these elements. *Plant Soil and Environment*, 49(5), 191–196.
- Wahsha, M., Al-Rshaidat, M.M.D., 2014. Potentially harmful elements in abandoned mine waste. En: Bini, C., Bech, J. (eds.), PHEs, Environment and Human Health, pp. 199–220. Springer, Dordrecht, Heidelberg, New York, London,

- Wang, J., Bai, J., Gao, Z., Lu, Q., Zhao, Q., 2015. Soil as levels and bioaccumulation in *Suaeda salsa* and *Phragmites australis* wetlands of the Yellow River Estuary, China. *BioMed Research International*. DOI: 10.1155/2015/301898
- Wei, S., Zhou, Q., Mathews, S., 2008. A newly found cadmium accumulator-*Taraxacum mongolicum*. *Journal of Hazardous Materials*, 159, 544–547.
- Wickham., H. 2009. *ggplot2: elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.
- Wójcik, M., Sugier, P., Siebielec, G., 2014. Metal accumulation strategies in plants spontaneously inhabiting Zn–Pb waste deposits. *Science of the Total Environment*, 487, 313–322.
- 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, Florida.
- Xia, X., Chen, X., Liu, R., Liu, H., 2011. Heavy metals in urban soils with various types of land use in Beijing, China. *Journal of Hazardous Materials*, 186, 2043–2050.
- Xu, D., Zhou, P., Zhan, J., Gao, Y., Dou, C., Sun, Q., 2013. Assessment of trace metal bioavailability in garden soils and health risks via consumption of vegetables in the vicinity of Tongling mining area, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 90, 103–111.
- Yoon, J., Cao, X., Zhou, Q., Ma., L.Q. 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment*, 368(2-3), 456–464.
- Zayed, A., Lytle, C. M., Qian, J. H., Terry, N., 1998. Chromium accumulation, translocation and chemical speciation in vegetable crops. *Planta*, 206(2), 293-299.
- Zhao, K., Liu, X., Xu, J., Selim, H.M., 2010. Heavy metal contaminations in a soil–ricesystem: identification of spatial dependence in relation to soil properties of paddy fields. *Journal of Hazardous Materials*, 181, 778–787.
- Zhuang, P., McBride, M.B., Xia, H., Li, N., Li, Z., 2009. Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *Science of the Total Environment*, 407, 1551–1561.

ANEXO I. Concentraciones medias en ppm (mg/kg) de peso seco y desviación estándar (n=3) de los elementos traza estudiados, Cr, Pb y Zn, en parte aérea y raíz de las siete especies estudiadas en las 11 zonas de muestreo de Haina (República Dominicana). *Los datos de la planta completa se han obtenido haciendo la media de las concentraciones de la parte aérea y de la raíz (n.d. = datos no disponibles).

| <i>Acalypha alopecuroides</i> | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|--------|---------------------|
| Zona estudiada | Parte de la planta | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | Aérea | 10,46 | 8,04 | 34,75 | 34,27 | 121,13 | 27,90 |
| | Raíz | 6,10 | 1,26 | 10,33 | 3,75 | 84,29 | 30,86 |
| Z1A | Aérea | 2,09 | 0,82 | 9,25 | 0,63 | 51,39 | 5,37 |
| | Raíz | 2,43 | 1,28 | 16,44 | 12,12 | 59,98 | n.d. |
| Z1B | Aérea | 2,40 | 1,00 | 46,22 | 23,41 | 105,15 | 42,38 |
| | Raíz | 2,19 | 0,85 | 90,39 | 42,84 | 82,61 | 32,27 |
| Z1C | Aérea | 2,03 | 1,34 | 5,66 | 2,75 | 113,71 | 46,38 |
| | Raíz | 1,87 | n.d. | 6,94 | 2,38 | 92,18 | 1,20 |
| Z2A | Aérea | 2,24 | 1,62 | 24,37 | 15,52 | 96,14 | 10,57 |
| | Raíz | n.d. | n.d. | 26,31 | 20,54 | 127,29 | 46,00 |
| Z2B | Aérea | 2,08 | 0,08 | 8,39 | 0,75 | 48,95 | 3,08 |
| | Raíz | 1,69 | 0,37 | 17,02 | 1,99 | 78,50 | 19,03 |
| Z2C | Aérea | 1,37 | 0,19 | 4,70 | 2,13 | 44,75 | 4,50 |
| | Raíz | 2,61 | 0,55 | 10,38 | 0,88 | 52,45 | 12,00 |
| Z3A | Aérea | 3,42 | 2,46 | 16,30 | 11,24 | 132,68 | 58,61 |
| | Raíz | 3,32 | 3,61 | 9,17 | 7,38 | 57,45 | 39,09 |
| Z3B | Aérea | 4,21 | 2,71 | 5,36 | 2,62 | 52,74 | 10,1 |
| | Raíz | 3,82 | 2,83 | 5,85 | 5,28 | 57,92 | 19,29 |
| Z3C | Aérea | 1,42 | 0,49 | 6,44 | 1,79 | 125,95 | 34,29 |
| | Raíz | 0,63 | 0,15 | 2,43 | 2,35 | 43,65 | 31,46 |
| Z4 | Aérea | n.d. | n.d. | 5,40 | 2,31 | 160,99 | 37,54 |
| | Raíz | 0,81 | 0,40 | 1,85 | 1,31 | n.d. | n.d. |
| Todas las zonas estudiadas | Planta completa * | 2,60 | 1,36 | 16,54 | 9,01 | 81,36 | 23,27 |
| | Aérea | 2,88 | 1,70 | 15,17 | 8,86 | 95,78 | 25,51 |
| | Raíz | 2,31 | 1,03 | 17,92 | 9,16 | 66,94 | 21,02 |

Continuación ANEXO I

| <i>Achyranthes aspera</i> | | | | | | | |
|---------------------------|--------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|--------|---------------------|
| Zona estudiada | Parte de la planta | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | Aérea | 2,63 | 1,09 | 15,38 | 3,31 | 42,40 | 6,27 |
| | Raíz | 0,96 | 0,44 | 23,33 | 13,24 | 25,28 | 6,06 |
| Z1A | Aérea | 0,76 | 0,16 | 13,89 | 1,91 | 40,05 | 13,97 |
| | Raíz | 1,89 | 1,32 | 43,75 | 6,11 | 30,04 | 8,61 |
| Z1B | Aérea | 0,23 | 0,13 | 14,83 | 15,31 | 25,57 | 7,67 |
| | Raíz | 0,38 | 0,19 | 46,48 | 54,87 | 20,42 | 3,37 |
| Z1C | Aérea | 0,87 | 0,46 | 14,41 | 2,83 | 79,41 | 62,08 |
| | Raíz | 1,01 | 0,10 | 24,81 | 6,55 | 44,73 | 20,14 |
| Z2A | Aérea | 0,95 | 0,34 | 6,05 | 2,35 | 53,44 | 20,09 |
| | Raíz | 2,04 | 1,17 | 16,20 | 10,85 | 44,73 | 13,25 |
| Z2B | Aérea | 0,51 | 0,28 | 4,03 | 2,13 | 19,06 | 5,78 |
| | Raíz | 0,80 | 0,18 | 14,89 | 2,67 | 17,50 | 0,30 |
| Z2C | Aérea | 0,75 | 0,19 | 4,81 | 0,72 | 33,46 | 4,41 |
| | Raíz | 1,82 | 0,44 | 18,13 | 1,10 | 16,56 | 2,03 |
| Z3A | Aérea | 1,26 | 0,42 | 8,36 | 9,15 | 117,57 | 38,89 |
| | Raíz | 1,23 | 0,30 | 8,61 | 6,50 | 78,93 | 44,64 |
| Z3B | Aérea | 1,29 | 0,55 | 2,08 | 0,33 | 22,77 | 3,89 |
| | Raíz | 4,98 | 2,23 | 6,87 | 4,84 | 20,77 | 1,75 |
| Z3C | Aérea | 1,18 | 0,38 | 6,01 | 1,01 | 53,53 | 24,31 |
| | Raíz | 1,42 | 0,51 | 16,40 | 4,79 | 43,43 | 6,41 |
| Z4 | Aérea | 1,61 | 0,99 | 6,01 | 2,15 | 36,44 | 11,40 |
| | Raíz | 1,94 | 0,96 | 10,87 | 2,34 | 33,38 | 4,64 |

| | | | | | | | |
|----------------------------|-------------------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| Todas las zonas estudiadas | Planta completa * | 1,39 | 0,59 | 14,83 | 7,05 | 40,86 | 14,09 |
| | Aérea | 1,10 | 0,46 | 8,72 | 3,75 | 47,61 | 18,06 |
| | Raíz | 1,68 | 0,72 | 20,94 | 10,39 | 34,11 | 10,11 |

Continuación ANEXO I

| <i>Amaranthus dubius</i> | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|--------|---------------------|
| Zona estudiada | Parte de la planta | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | Aérea | 4,36 | 1,17 | 6,38 | 1,02 | 73,41 | 16,80 |
| | Raíz | 2,14 | 0,13 | 13,26 | 2,41 | 34,56 | 2,18 |
| Z1A | Aérea | 5,03 | 2,03 | 16,04 | 4,56 | 79,22 | 18,49 |
| | Raíz | 3,88 | 2,58 | 23,55 | 21,11 | 57,67 | 10,69 |
| Z1B | Aérea | 0,92 | 0,29 | 7,35 | 1,61 | 47,17 | 4,19 |
| | Raíz | 1,15 | 0,22 | 21,01 | 1,82 | 40,00 | 3,02 |
| Z1C | Aérea | 1,72 | 0,47 | 13,61 | 1,36 | 69,34 | 13,45 |
| | Raíz | 1,07 | n.d. | 22,12 | 4,77 | 28,56 | 6,93 |
| Z2A | Aérea | 1,87 | 1,62 | 7,86 | 1,21 | 113,97 | 19,84 |
| | Raíz | 1,10 | 0,22 | 16,83 | 12,84 | 55,30 | 2,14 |
| Z2B | Aérea | 1,55 | 0,52 | 19,37 | 6,20 | 61,02 | 6,18 |
| | Raíz | 1,95 | 0,49 | 41,70 | 5,86 | 37,27 | 17,32 |
| Z2C | Aérea | 1,52 | 0,84 | 5,75 | 1,86 | 51,14 | 3,24 |
| | Raíz | 1,10 | 0,21 | 12,89 | 4,24 | 31,82 | 10,33 |
| Z3A | Aérea | 4,21 | 2,42 | 7,69 | 5,76 | 94,11 | 27,57 |
| | Raíz | 4,50 | 1,37 | 11,72 | 4,43 | 81,11 | 12,35 |
| Z3B | Aérea | 2,82 | 0,95 | 2,95 | 0,75 | 59,48 | 25,67 |
| | Raíz | 1,85 | 0,06 | 3,93 | 0,85 | 76,20 | 7,46 |
| Z3C | Aérea | 0,76 | 0,24 | 4,51 | 0,74 | 52,25 | 9,82 |
| | Raíz | 1,21 | 0,47 | 16,82 | 3,85 | 52,65 | 29,19 |
| Z4 | Aérea | 13,18 | 3,37 | 3,04 | 0,68 | 80,78 | 24,30 |
| | Raíz | 8,39 | 4,70 | 4,35 | 2,23 | 51,65 | 11,56 |

| | | | | | | | |
|----------------------------|-------------------|------|------|-------|------|-------|-------|
| Todas las zonas estudiadas | Planta completa * | 3,03 | 1,11 | 12,85 | 4,10 | 60,39 | 12,87 |
| | Aérea | 3,45 | 1,26 | 8,60 | 2,34 | 71,08 | 15,46 |
| | Raíz | 2,61 | 0,95 | 17,11 | 5,86 | 49,71 | 10,29 |

Continuación ANEXO I

| <i>Bidens pilosa</i> | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|--------|---------------------|
| Zona estudiada | Parte de la planta | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | Aérea | 5,65 | 2,74 | 7,33 | 3,45 | 58,46 | 5,26 |
| | Raíz | 4,69 | 1,29 | 21,39 | 13,14 | 32,64 | 2,59 |
| Z1A | Aérea | 0,32 | 0,16 | 5,55 | 0,51 | 46,74 | 15,05 |
| | Raíz | 0,41 | 0,21 | 20,06 | 11,22 | 37,32 | 22,86 |
| Z1B | Aérea | 0,21 | 0,14 | 24,97 | 2,63 | 58,28 | 19,73 |
| | Raíz | 1,23 | 0,30 | 91,43 | 1,09 | 32,21 | 8,60 |
| Z1C | Aérea | 0,44 | 0,31 | 6,03 | 1,92 | 38,46 | 8,89 |
| | Raíz | 1,11 | 0,74 | 13,62 | 3,63 | 28,79 | 4,47 |
| Z2A | Aérea | 0,82 | 0,11 | 11,43 | 11,27 | 73,93 | 9,30 |
| | Raíz | 1,27 | 0,72 | 11,74 | 1,72 | 38,74 | 10,09 |
| Z2B | Aérea | 0,94 | 0,20 | 6,29 | 2,51 | 114,19 | 38,50 |
| | Raíz | 1,59 | 0,19 | 12,40 | 4,25 | 47,08 | 15,86 |
| Z2C | Aérea | 0,85 | 0,18 | 5,30 | 0,39 | 41,67 | 7,37 |
| | Raíz | 1,57 | 0,49 | 17,47 | 2,62 | 32,28 | 1,72 |
| Z3A | Aérea | 0,85 | 0,18 | 5,67 | 0,14 | 122,69 | 2,05 |
| | Raíz | 2,53 | 2,04 | 11,92 | 4,24 | 142,73 | 115,25 |
| Z3B | Aérea | 1,02 | 0,25 | 1,05 | 0,42 | 32,78 | 10,37 |
| | Raíz | 1,33 | 0,49 | 2,06 | 0,96 | 35,00 | 6,08 |
| Z3C | Aérea | 1,51 | 0,16 | 3,69 | 0,34 | 55,85 | 13,61 |
| | Raíz | 1,12 | 0,67 | 7,73 | 3,42 | 22,49 | 6,13 |
| Z4 | Aérea | 1,04 | 0,59 | 1,47 | 0,18 | 63,08 | 18,44 |
| | Raíz | 1,56 | 1,17 | 1,50 | 0,51 | 30,39 | 9,41 |
| Todas las zonas estudiadas | Planta completa* | 1,46 | 0,61 | 13,19 | 3,21 | 53,90 | 15,98 |
| | Aérea | 1,24 | 0,46 | 7,16 | 2,16 | 64,19 | 13,50 |
| | Raíz | 1,67 | 0,75 | 19,21 | 4,25 | 43,61 | 18,46 |

Continuación ANEXO I

| <i>Heliotropium angiospermum</i> | | | | | | | |
|----------------------------------|--------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|--------|---------------------|
| Zona estudiada | Parte de la planta | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | Aérea | 6,08 | 0,98 | 6,15 | 0,74 | 102,00 | 12,86 |
| | Raíz | 6,78 | 8,32 | 9,94 | 2,25 | 40,20 | 11,64 |
| Z1A | Aérea | 0,94 | 0,11 | 9,14 | 3,41 | 79,89 | 16,69 |
| | Raíz | 0,82 | 0,49 | 24,68 | 10,39 | 49,25 | 18,97 |
| Z1B | Aérea | 3,54 | 2,13 | 16,83 | 11,34 | 273,25 | 32,36 |
| | Raíz | 2,55 | 1,94 | 26,86 | 7,62 | 205,46 | 141,23 |
| Z1C | Aérea | 3,99 | 1,97 | 4,09 | 0,86 | 46,61 | 2,64 |
| | Raíz | 1,95 | 1,59 | 6,44 | 1,88 | 22,26 | 8,78 |
| Z2A | Aérea | 0,71 | 0,90 | 4,93 | 1,02 | 122,35 | 25,67 |
| | Raíz | 0,39 | 0,16 | 7,89 | 2,51 | 63,70 | 6,21 |
| Z2B | Aérea | 2,40 | 0,73 | 14,63 | 6,38 | 73,54 | 5,33 |
| | Raíz | 0,84 | 0,47 | 18,34 | 9,11 | 52,90 | 30,85 |
| Z2C | Aérea | 1,81 | 0,45 | 4,50 | 0,98 | 83,40 | 30,70 |
| | Raíz | 0,99 | 0,37 | 6,49 | 1,76 | 51,96 | 13,22 |
| Z3A | Aérea | 3,22 | 2,77 | 5,82 | 0,70 | 58,73 | 6,18 |
| | Raíz | 6,27 | 3,37 | 30,32 | 8,76 | 101,99 | 42,94 |
| Z3B | Aérea | 6,80 | 6,23 | 3,48 | 1,81 | 54,05 | 8,37 |
| | Raíz | 7,40 | 5,66 | 3,88 | 1,33 | 73,28 | 39,80 |
| Z3C | Aérea | 3,09 | 2,69 | 4,72 | 1,55 | 86,76 | 52,02 |
| | Raíz | 1,84 | 0,53 | 5,54 | 2,12 | 62,11 | 54,93 |
| Z4 | Aérea | 7,78 | 1,94 | 3,37 | 1,33 | 45,70 | 12,04 |
| | Raíz | 5,82 | 1,73 | 5,22 | 5,13 | 19,77 | 2,15 |

| | | | | | | | |
|----------------------------|-------------------|------|------|-------|------|-------|-------|
| Todas las zonas estudiadas | Planta completa * | 3,46 | 2,07 | 10,15 | 3,77 | 80,23 | 26,16 |
| | Aérea | 3,67 | 1,90 | 7,06 | 2,74 | 92,93 | 18,62 |
| | Raíz | 3,24 | 2,24 | 13,24 | 4,81 | 67,53 | 33,70 |

Continuación ANEXO I

| <i>Parthenium hysterophorus</i> | | | | | | | |
|---------------------------------|--------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|--------|---------------------|
| Zona estudiada | Parte de la planta | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | Aérea | 9,74 | 5,61 | 4,41 | 0,99 | 84,76 | 7,71 |
| | Raíz | 3,33 | 0,78 | 11,87 | 4,77 | 63,13 | 13,43 |
| Z1A | Aérea | 0,99 | 0,17 | 5,22 | 0,72 | 64,22 | 21,21 |
| | Raíz | 3,64 | 3,13 | 35,36 | 16,98 | 61,11 | 5,39 |
| Z1B | Aérea | 1,23 | 0,87 | 16,81 | 7,91 | 62,77 | 6,83 |
| | Raíz | 2,37 | 1,09 | 72,99 | 46,74 | 63,60 | 21,45 |
| Z1C | Aérea | 5,39 | 1,36 | 20,63 | 5,83 | 64,19 | 6,16 |
| | Raíz | 4,76 | 1,29 | 29,51 | 5,28 | 42,62 | 12,67 |
| Z2A | Aérea | 1,84 | 1,09 | 6,75 | 3,85 | 106,72 | 56,99 |
| | Raíz | 4,54 | 1,92 | 24,74 | 16,29 | 85,14 | 16,08 |
| Z2B | Aérea | 1,49 | 0,81 | 4,52 | 1,27 | 65,61 | 13,37 |
| | Raíz | 2,24 | 0,98 | 24,83 | 5,17 | 43,44 | 3,37 |
| Z2C | Aérea | 1,39 | 0,66 | 4,87 | 2,06 | 94,62 | 13,43 |
| | Raíz | 2,49 | 0,65 | 9,83 | 1,47 | 52,68 | 14,36 |
| Z3A | Aérea | 1,18 | 0,39 | 7,25 | 3,34 | 39,90 | 5,00 |
| | Raíz | 1,18 | 0,25 | 14,85 | 1,68 | 33,88 | 1,57 |
| Z3B | Aérea | 2,78 | 1,11 | 1,90 | 0,36 | 44,54 | 3,94 |
| | Raíz | 4,73 | 2,67 | 3,89 | 1,61 | 45,44 | 10,63 |
| Z3C | Aérea | 0,52 | 0,25 | 2,79 | 0,27 | 63,20 | 6,70 |
| | Raíz | 3,08 | 1,99 | 18,85 | 8,49 | 67,94 | 33,70 |
| Z4 | Aérea | 13,82 | 4,24 | 3,86 | 0,27 | 71,57 | 6,37 |
| | Raíz | 5,89 | 2,76 | 2,99 | 0,60 | 60,34 | 9,13 |

| | | | | | | | |
|----------------------------|-------------------|------|------|-------|------|-------|-------|
| Todas las zonas estudiadas | Planta completa * | 3,57 | 1,55 | 14,94 | 6,18 | 62,79 | 13,61 |
| | Aérea | 3,67 | 1,51 | 7,94 | 2,44 | 69,28 | 14,34 |
| | Raíz | 3,48 | 1,59 | 22,70 | 9,92 | 56,30 | 12,89 |

Continuación ANEXO I

| <i>Sida rhombifolia</i> | | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|-------|---------------------|--------|---------------------|--------|---------------------|
| Zona estudiada | Parte de la planta | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | Aérea | 1,58 | 0,11 | 6,96 | 0,65 | 118,70 | 34,79 |
| | Raíz | 1,82 | 0,67 | 18,70 | 5,01 | 122,93 | 23,25 |
| Z1A | Aérea | 1,26 | 0,13 | 18,27 | 9,85 | 53,34 | 7,59 |
| | Raíz | 0,58 | 0,14 | 22,81 | 10,96 | 36,97 | 6,44 |
| Z1B | Aérea | 0,61 | 0,17 | 19,04 | 1,92 | 60,58 | 5,82 |
| | Raíz | 2,15 | 0,37 | 101,32 | 31,57 | 68,97 | 20,74 |
| Z1C | Aérea | 4,93 | 1,40 | 26,44 | 20,67 | 78,32 | 0,14 |
| | Raíz | 1,78 | 0,27 | 26,26 | 4,50 | 81,53 | 6,38 |
| Z2A | Aérea | 1,03 | 0,34 | 8,56 | 1,86 | 148,76 | 32,78 |
| | Raíz | 0,93 | 0,52 | 19,22 | 10,40 | 96,14 | 12,97 |
| Z2B | Aérea | 0,52 | 0,03 | 7,72 | 2,42 | 116,21 | 22,04 |
| | Raíz | 0,98 | 0,28 | 21,63 | 8,41 | 153,34 | 35,78 |
| Z2C | Aérea | 0,83 | 0,26 | 5,93 | 0,61 | 64,13 | 4,72 |
| | Raíz | 2,24 | 0,66 | 19,07 | 3,78 | 66,59 | 8,01 |
| Z3A | Aérea | 2,96 | 0,69 | 5,87 | 1,24 | 77,86 | 13,65 |
| | Raíz | 1,60 | 0,32 | 8,15 | 1,49 | 109,74 | 17,87 |
| Z3B | Aérea | 5,31 | 4,23 | 3,35 | 1,96 | 68,08 | 26,06 |
| | Raíz | 2,59 | 0,79 | 5,15 | 5,81 | 23,15 | 13,68 |
| Z3C | Aérea | 1,10 | 0,12 | 5,99 | 0,92 | 65,68 | 27,73 |
| | Raíz | 1,12 | 0,36 | 13,42 | 3,81 | 64,12 | 22,37 |
| Z4 | Aérea | 0,72 | 0,08 | 6,11 | 1,30 | 43,97 | 27,76 |
| | Raíz | 3,89 | 1,53 | 22,14 | 3,74 | 50,80 | 14,77 |

| | | | | | | | |
|----------------------------|-------------------|------|------|-------|------|-------|-------|
| Todas las zonas estudiadas | Planta completa * | 1,84 | 0,61 | 17,82 | 6,04 | 80,18 | 17,38 |
| | Aérea | 1,90 | 0,69 | 10,38 | 3,94 | 81,43 | 18,19 |
| | Raíz | 1,79 | 0,54 | 25,26 | 8,13 | 78,94 | 16,57 |

ANEXO II. Valores p obtenidos en la prueba de Wilcoxon en comparaciones de las concentraciones de metales pesados entre partes aéreas y raíces de cada una de las especies seleccionadas considerando las once zonas estudiadas (los valores significativos ($p < 0,05$) están marcados en negrita).

| Especie | Cr | Pb | Zn |
|----------------------------------|----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <i>Acalypha alopecuroides</i> | 0,39380 | 0,78820 | 0,21202 |
| <i>Achyranthes aspera</i> | 0,02938 | 3,753e⁻⁰⁵ | 0,02924 |
| <i>Amaranthus dubius</i> | 0,64300 | 0,00143 | 0,00057 |
| <i>Bidens pilosa</i> | 0,01242 | 0,00090 | 5,588e⁻⁰⁶ |
| <i>Heliotropium angiospermum</i> | 0,14650 | 0,00618 | 0,00795 |
| <i>Parthenium hysterophorus</i> | 0,03955 | 4,792e⁻⁰⁵ | 0,01822 |
| <i>Sida rhombifolia</i> | 0,20450 | 1,894e⁻⁰⁵ | 0,80880 |

ANEXO III. Valores p obtenidos mediante la prueba de Conover en comparaciones por pares de especies de los valores de acumulación en partes aéreas (triángulo inferior, marcado en gris) y raíces (triángulo superior, marcado en blanco) para Cr, Pb y Zn. Valores de p significativos ($p < 0,05$) se han marcado en negrita.

| Cr | <i>Acalypha alpecurioides</i> | <i>Achyranthes aspera</i> | <i>Amaranthus dubius</i> | <i>Bidens pilosa</i> | <i>Heliotropium angiospermum</i> | <i>Parthenium hysterophorus</i> | <i>Sida rhombifolia</i> |
|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| <i>Acalypha alpecurioides</i> | | 0,43263 | 0,34812 | 0,49397 | 0,76462 | 0,00044 | 0,92983 |
| <i>Achyranthes aspera</i> | 6,20e⁻⁰⁸ | - | 0,08460 | 0,91965 | 0,27605 | 2,0e⁻⁰⁵ | 0,48217 |
| <i>Amaranthus dubius</i> | 0,26683 | 9,80e⁻⁰⁶ | - | 0,10439 | 0,51931 | 0,00870 | 0,30115 |
| <i>Bidens pilosa</i> | 8,10e⁻⁰⁹ | 0,6936 | 1,70e⁻⁰⁶ | - | 0,32317 | 3,1e⁻⁰⁵ | 0,54763 |
| <i>Heliotropium angiospermum</i> | 0,81967 | 1,60e⁻⁰⁷ | 0,37344 | 2,10e⁻⁰⁸ | - | 0,00116 | 0,69620 |
| <i>Parthenium hysterophorus</i> | 0,06402 | 0,00021 | 0,45166 | 4,40e⁻⁰⁵ | 0,10122 | - | 0,00029 |
| <i>Sida rhombifolia</i> | 0,00018 | 0,08004 | 0,00679 | 0,0326 | 0,00037 | 0,04844 | |

| Pb | <i>Acalypha alpecurioides</i> | <i>Achyranthes aspera</i> | <i>Amaranthus dubius</i> | <i>Bidens pilosa</i> | <i>Heliotropium angiospermum</i> | <i>Parthenium hysterophorus</i> | <i>Sida rhombifolia</i> |
|----------------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| <i>Acalypha alpecurioides</i> | | 0,0120 | 0,0818 | 0,3967 | 0,8737 | 0,0169 | 0,0022 |
| <i>Achyranthes aspera</i> | 0,1730 | - | 0,4184 | 0,0873 | 0,0166 | 0,8837 | 0,5867 |
| <i>Amaranthus dubius</i> | 0,2221 | 0,8794 | - | 0,3619 | 0,1078 | 0,5039 | 0,1734 |
| <i>Bidens pilosa</i> | 0,0033 | 0,1164 | 0,0830 | - | 0,4840 | 0,1148 | 0,0236 |
| <i>Heliotropium angiospermum</i> | 0,0162 | 0,3006 | 0,2319 | 0,5878 | - | 0,0233 | 0,0031 |
| <i>Parthenium hysterophorus</i> | 0,0028 | 0,1045 | 0,0739 | 0,9568 | 0,5511 | - | 0,4870 |
| <i>Sida rhombifolia</i> | 0,1887 | 0,2214 | 0,2801 | 0,0052 | 0,0235 | 0,0044 | |

Continuación ANEXO III

| Zn | <i>Acalypha alopecuroides</i> | <i>Achyranthes aspera</i> | <i>Amaranthus dubius</i> | <i>Bidens pilosa</i> | <i>Heliotropium angiospermum</i> | <i>Parthenium hysterophorus</i> | <i>Sida rhombifolia</i> |
|--------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|------------------------------|----------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| <i>Acalypha alpecuroides</i> | | 7,10e ⁻⁰⁸ | 0.02961 | 4,50e ⁻⁰⁶ | 0,07890 | 0,35373 | 0,33248 |
| <i>Achyranthes aspera</i> | 6,20e ⁻⁰⁹ | - | 0,00069 | 0,39835 | 0,00014 | 4,10e ⁻⁰⁶ | 2,20e ⁻¹⁰ |
| <i>Amaranthus dubius</i> | 0,11639 | 1,10e ⁻⁰⁵ | - | 0,01083 | 0,6669 | 0,20178 | 0,000152 |
| <i>Bidens pilosa</i> | 8,10e ⁻⁰⁴ | 0,00929 | 0,06617 | - | 0,00303 | 0,00016 | 2,90e ⁻⁰⁸ |
| <i>Heliotropium angiospermum</i> | 0,41067 | 3,30e ⁻⁰⁷ | 0,44934 | 0,00999 | - | 0,39663 | 0,00590 |
| <i>Parthenium hysterophorus</i> | 0,05198 | 5,20e ⁻⁰⁵ | 0,70397 | 0,14329 | 0,25622 | - | 0,05476 |
| <i>Sida rhombifolia</i> | 0,45491 | 2,30e ⁻⁰⁷ | 0,40509 | 0,00805 | 0,93925 | 0,22581 | |

ANEXO IV. Valores del Factor de Bioacumulación (FB) y del Factor de Translocación (FT) y desviación estándar, de los elementos traza Cr, Pb y Zn en las siete especies de plantas estudiadas en las 11 zonas de muestreo de Haina (República Dominicana). Los valores medios de FB y FT para todas las zonas estudiadas superiores a la unidad se han marcado en negrita (n.d. =datos no disponibles). Valores medios de FB y FT para todas las zonas > 1,0 se han marcado en negrita.

| <i>Acalypha alopecuroides</i> | | | | | | | |
|-------------------------------|----------|-------------|---------------------|-------------|---------------------|-------------|---------------------|
| Zona estudiada | FB y FT | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | FB | 0,53 | 0,40 | 2,10 | 2,08 | 1,59 | 0,37 |
| | FT | 1,62 | 0,96 | 2,94 | 2,24 | 1,61 | 0,82 |
| Z1A | FB | 0,12 | 5,00 | 0,01 | 0,00 | 0,84 | 0,09 |
| | FT | 0,82 | 0,04 | 0,80 | 0,50 | 0,96 | n.d. |
| Z1B | FB | 0,12 | 0,05 | 0,05 | 0,03 | 2,96 | 1,19 |
| | FT | 1,14 | 0,39 | 0,51 | 0,12 | 1,44 | 0,87 |
| Z1C | FB | 0,19 | 0,13 | 0,10 | 0,05 | 1,22 | 0,50 |
| | FT | 0,69 | n.d. | 0,85 | 0,46 | 1,24 | 0,52 |
| Z2A | FB | 0,14 | 0,10 | 0,05 | 0,03 | 2,56 | 0,28 |
| | FT | n.d. | n.d. | 1,67 | 2,04 | 0,82 | 0,28 |
| Z2B | FB | 0,02 | 0,00 | 0,30 | 0,03 | 2,12 | 0,13 |
| | FT | 1,23 | 0,30 | 0,52 | 0,04 | 0,66 | 0,20 |
| Z2C | FB | 0,08 | 0,01 | 0,05 | 0,02 | 0,56 | 0,06 |
| | FT | 0,55 | 0,21 | 0,47 | 0,25 | 0,88 | 0,22 |
| Z3A | FB | 0,26 | 0,19 | 0,03 | 0,03 | 0,66 | 0,29 |
| | FT | 1,37 | 0,46 | 2,63 | 2,99 | 3,10 | 1,74 |
| Z3B | FB | 0,32 | 0,21 | 0,08 | 0,04 | 0,22 | 0,04 |
| | FT | 2,37 | 3,08 | 2,13 | 2,53 | 1,03 | 0,55 |
| Z3C | FB | 0,01 | 0,00 | 0,27 | 0,08 | 0,41 | 0,11 |
| | FT | 2,32 | 0,86 | 4,11 | 2,65 | 2,04 | 0,22 |
| Z4 | FB | n.d. | n.d. | 0,17 | 0,07 | 1,42 | 0,33 |
| | FT | n.d. | n.d. | 3,33 | 1,29 | n.d. | n.d. |
| Todas las zonas | Media FB | 0,18 | 0,11 | 0,29 | 0,22 | 1,32 | 0,30 |
| | Media FT | 1,34 | 0,79 | 1,82 | 0,30 | 1,37 | 0,60 |

Continuación ANEXO IV

| <i>Achyranthes aspera</i> | | | | | | | |
|---------------------------|----------|-------|---------------------|-------|---------------------|-------------|---------------------|
| Zona estudiada | FB y FT | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | FB | 0,13 | 0,05 | 0,93 | 0,20 | 0,56 | 0,08 |
| | FT | 3,03 | 1,33 | 0,85 | 0,51 | 0,71 | 0,18 |
| Z1A | FB | 0,04 | 0,01 | 0,01 | 0,00 | 0,65 | 0,22 |
| | FT | 0,48 | 0,17 | 0,31 | 0,00 | 1,38 | 0,57 |
| Z1B | FB | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,72 | 0,21 |
| | FT | 0,63 | 0,22 | 0,38 | 0,19 | 1,31 | 0,59 |
| Z1C | FB | 0,08 | 0,04 | 0,25 | 0,05 | 0,85 | 0,67 |
| | FT | 0,90 | 0,56 | 0,59 | 0,08 | 1,65 | 0,59 |
| Z2A | FB | 0,06 | 0,02 | 0,01 | 0,00 | 1,42 | 0,53 |
| | FT | 0,58 | 0,35 | 0,51 | 0,42 | 1,26 | 0,48 |
| Z2B | FB | 0,01 | 0,00 | 0,14 | 0,08 | 0,83 | 0,25 |
| | FT | 0,63 | 0,29 | 0,29 | 0,18 | 1,09 | 0,34 |
| Z2C | FB | 0,04 | 0,01 | 0,05 | 0,01 | 0,42 | 0,06 |
| | FT | 0,44 | 0,21 | 0,26 | 0,03 | 2,03 | 0,27 |
| Z3A | FB | 0,09 | 0,03 | 0,01 | 0,02 | 0,58 | 0,19 |
| | FT | 0,85 | 0,22 | 1,99 | 2,36 | 1,69 | 0,74 |
| Z3B | FB | 0,10 | 0,04 | 0,03 | 0,01 | 0,09 | 0,01 |
| | FT | 0,28 | 0,14 | 0,43 | 0,29 | 1,14 | 0,28 |
| Z3C | FB | 0,01 | 0,00 | 0,25 | 0,04 | 0,17 | 0,08 |
| | FT | 0,10 | 0,73 | 0,40 | 0,20 | 1,29 | 0,76 |
| Z4 | FB | 0,15 | 0,09 | 0,19 | 0,07 | 0,32 | 0,10 |
| | FT | 1,19 | 1,09 | 0,51 | 0,16 | 1,12 | 0,49 |
| Todas las zonas | Media FB | 0,07 | 0,03 | 0,17 | 0,04 | 0,60 | 0,22 |
| | Media FT | 0,91 | 0,49 | 0,60 | 0,40 | 1,43 | 0,48 |

Continuación ANEXO IV

| <i>Amaranthus dubius</i> | | | | | | | |
|--------------------------|----------|-------------|---------------------|-------|---------------------|-------------|---------------------|
| Zona estudiada | FB y FT | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | FB | 0,22 | 0,06 | 0,38 | 0,06 | 0,96 | 0,22 |
| | FT | 2,06 | 0,63 | 0,48 | 0,02 | 2,11 | 0,35 |
| Z1A | FB | 0,29 | 0,11 | 0,01 | 0,00 | 1,29 | 0,30 |
| | FT | 1,59 | 0,78 | 1,18 | 1,11 | 1,33 | 0,12 |
| Z1B | FB | 0,05 | 0,01 | 0,01 | 0,00 | 1,18 | 0,02 |
| | FT | 0,61 | 0,15 | 0,35 | 0,11 | 0,74 | 0,14 |
| Z1C | FB | 0,16 | 0,04 | 0,23 | 0,02 | 2,45 | 0,23 |
| | FT | 1,85 | n.d. | 0,63 | 0,12 | 3,03 | 0,53 |
| Z2A | FB | 0,12 | 0,10 | 0,02 | 0,00 | 2,45 | 0,38 |
| | FT | 1,51 | 1,21 | 1,05 | 1,24 | 2,64 | 0,28 |
| Z2B | FB | 0,01 | 0,00 | 0,68 | 0,22 | 1,83 | 0,62 |
| | FT | 0,79 | 0,11 | 0,47 | 0,16 | 0,64 | 0,04 |
| Z2C | FB | 0,09 | 0,05 | 0,06 | 0,02 | 1,76 | 0,72 |
| | FT | 1,51 | 1,01 | 0,49 | 0,27 | 0,47 | 0,14 |
| Z3A | FB | 0,32 | 0,18 | 0,02 | 0,01 | 1,15 | 0,19 |
| | FT | 0,95 | 0,51 | 0,66 | 0,13 | 0,25 | 0,11 |
| Z3B | FB | 0,22 | 0,07 | 0,04 | 0,47 | 0,76 | 0,27 |
| | FT | 1,53 | 0,54 | 0,75 | 0,01 | 0,17 | 0,03 |
| Z3C | FB | 0,01 | 0,00 | 0,19 | 0,13 | 0,76 | 0,27 |
| | FT | 0,64 | 0,16 | 0,27 | 0,03 | 1,16 | 0,03 |
| Z4 | FB | 1,23 | 0,31 | 0,09 | 0,02 | 0,71 | 0,21 |
| | FT | 1,98 | n.d. | 0,82 | 0,34 | 1,69 | 0,93 |
| Todas las zonas | Media FB | 0,25 | 0,09 | 0,16 | 0,04 | 1,11 | 0,19 |
| | Media FT | 1,37 | 0,64 | 0,65 | 0,36 | 1,59 | 0,40 |

Continuación ANEXO IV

| <i>Bidens pilosa</i> | | | | | | | |
|------------------------|----------|-------|---------------------|-------|---------------------|-------------|---------------------|
| Zona estudiada | FB y FT | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | FB | 0,28 | 0,14 | 0,44 | 0,21 | 0,76 | 0,07 |
| | FT | 1,20 | 0,57 | 0,37 | 0,10 | 1,80 | 0,23 |
| Z1A | FB | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,00 | 0,76 | 0,24 |
| | FT | 1,12 | 1,16 | 0,32 | 0,13 | 1,39 | 0,36 |
| Z1B | FB | 0,01 | 0,01 | 0,03 | 0,00 | 1,64 | 0,56 |
| | FT | 0,10 | 0,01 | 0,27 | 0,02 | 1,78 | 0,11 |
| Z1C | FB | 0,04 | 0,02 | 0,10 | 0,03 | 0,41 | 0,09 |
| | FT | 0,44 | 0,22 | 0,45 | 0,12 | 1,33 | 0,13 |
| Z2A | FB | 0,05 | 0,01 | 0,02 | 0,02 | 1,97 | 0,25 |
| | FT | 0,74 | 0,27 | 1,02 | 1,08 | 2,04 | 0,80 |
| Z2B | FB | 0,01 | 0,00 | 0,22 | 0,08 | 4,94 | 1,67 |
| | FT | 0,61 | 0,18 | 0,56 | 0,29 | 2,49 | 0,71 |
| Z2C | FB | 0,05 | 0,01 | 0,06 | 0,00 | 0,52 | 0,09 |
| | FT | 0,60 | 0,31 | 0,31 | 0,07 | 1,30 | 0,30 |
| Z3A | FB | 0,06 | 0,01 | 0,01 | 0,00 | 0,61 | 0,01 |
| | FT | 0,67 | 0,67 | 0,53 | 0,24 | 1,28 | 1,05 |
| Z3B | FB | 0,08 | 0,02 | 0,02 | 0,01 | 0,13 | 0,04 |
| | FT | 0,80 | 0,13 | 0,52 | 0,08 | 0,99 | 0,49 |
| Z3C | FB | 0,01 | 0,00 | 0,16 | 0,01 | 0,18 | 0,04 |
| | FT | 1,98 | 1,61 | 0,56 | 0,29 | 2,55 | 0,55 |
| Z4 | FB | 0,10 | 0,05 | 0,06 | 0,01 | 0,56 | 0,16 |
| | FT | 0,76 | 0,28 | 1,04 | 0,28 | 2,34 | 1,42 |
| Todas las zonas | Media FB | 0,07 | 0,03 | 0,10 | 0,04 | 1,14 | 0,29 |
| | Media FT | 0,82 | 0,49 | 0,54 | 0,24 | 1,75 | 0,56 |

Continuación ANEXO IV

| <i>Heliotropium angiospermum</i> | | | | | | | |
|----------------------------------|----------|-------------|---------------------|-------|---------------------|-------------|---------------------|
| Zona estudiada | FB y FT | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | FB | 0,31 | 0,04 | 0,37 | 0,04 | 1,34 | 0,17 |
| | FT | 2,42 | 1,94 | 0,65 | 0,21 | 2,67 | 0,71 |
| Z1A | FB | 0,05 | 0,01 | 0,01 | 0,00 | 1,31 | 0,27 |
| | FT | 1,37 | 0,54 | 0,40 | 0,14 | 1,72 | 0,40 |
| Z1B | FB | 0,18 | 0,10 | 0,02 | 0,01 | 7,70 | 0,91 |
| | FT | 1,50 | 0,27 | 0,62 | 0,31 | 2,19 | 1,94 |
| Z1C | FB | 0,37 | 0,18 | 0,07 | 0,01 | 0,46 | 0,03 |
| | FT | 2,66 | 0,87 | 0,67 | 0,20 | 2,19 | 1,09 |
| Z2A | FB | 0,05 | 0,06 | 0,01 | 0,00 | 3,25 | 0,68 |
| | FT | 0,46 | 0,14 | 0,65 | 0,18 | 1,95 | 1,09 |
| Z2B | FB | 0,02 | 0,01 | 0,52 | 0,23 | 3,18 | 0,23 |
| | FT | 3,31 | 1,65 | 0,82 | 0,06 | 1,99 | 1,58 |
| Z2C | FB | 0,11 | 0,02 | 0,04 | 0,01 | 1,05 | 0,38 |
| | FT | 1,91 | 0,39 | 0,73 | 0,28 | 1,72 | 0,78 |
| Z3A | FB | 0,24 | 0,21 | 0,01 | 0,00 | 0,29 | 0,03 |
| | FT | 0,54 | 0,43 | 0,20 | 0,04 | 0,65 | 0,25 |
| Z3B | FB | 0,52 | 0,47 | 0,05 | 0,03 | 0,23 | 0,03 |
| | FT | 0,85 | 0,13 | 0,94 | 0,40 | 0,95 | 0,60 |
| Z3C | FB | 0,02 | 0,02 | 0,20 | 0,07 | 0,28 | 0,17 |
| | FT | 2,15 | 2,48 | 0,97 | 0,50 | 2,20 | 2,27 |
| Z4 | FB | 0,73 | 0,18 | 0,11 | 0,04 | 0,40 | 0,10 |
| | FT | 1,60 | 0,46 | 1,30 | 1,38 | 2,34 | 0,67 |
| Todas las zonas | Media FB | 0,24 | 0,12 | 0,13 | 0,04 | 1,77 | 0,27 |
| | Media FT | 1,71 | 0,85 | 0,72 | 0,34 | 1,87 | 0,99 |

Continuación ANEXO IV

| <i>Parthenium hysterophorus</i> | | | | | | | |
|---------------------------------|----------|-------------|---------------------|-------|---------------------|-------------|---------------------|
| Zona estudiada | FB y FT | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | FB | 0,49 | 0,28 | 0,27 | 0,06 | 1,11 | 0,23 |
| | FT | 3,29 | 2,35 | 0,45 | 0,30 | 1,34 | 0,02 |
| Z1A | FB | 0,06 | 0,06 | 0,01 | 0,00 | 1,05 | 0,35 |
| | FT | 0,44 | 0,29 | 0,17 | 0,06 | 1,04 | 0,27 |
| Z1B | FB | 0,06 | 0,04 | 0,02 | 0,01 | 1,77 | 0,19 |
| | FT | 0,48 | 0,13 | 0,25 | 0,11 | 1,05 | 0,32 |
| Z1C | FB | 0,50 | 0,13 | 0,35 | 0,10 | 0,69 | 0,07 |
| | FT | 1,13 | 0,07 | 0,71 | 0,26 | 1,57 | 0,30 |
| Z2A | FB | 0,12 | 0,07 | 0,01 | 0,01 | 2,83 | 1,52 |
| | FT | 0,41 | 0,16 | 0,46 | 0,48 | 1,37 | 0,96 |
| Z2B | FB | 0,01 | 0,01 | 0,16 | 0,04 | 2,84 | 0,57 |
| | FT | 0,76 | 0,49 | 0,46 | 0,04 | 1,51 | 0,30 |
| Z2C | FB | 0,08 | 0,04 | 0,05 | 0,02 | 1,19 | 0,17 |
| | FT | 0,58 | 0,32 | 0,53 | 0,31 | 1,86 | 0,36 |
| Z3A | FB | 0,09 | 0,03 | 0,02 | 0,01 | 0,20 | 0,02 |
| | FT | 0,98 | 0,14 | 0,51 | 0,28 | 0,18 | 0,18 |
| Z3B | FB | 0,21 | 0,09 | 0,03 | 0,01 | 0,19 | 0,02 |
| | FT | 0,63 | 0,15 | 0,54 | 0,21 | 1,04 | 0,36 |
| Z3C | FB | 0,00 | 0,00 | 0,12 | 0,01 | 0,20 | 0,02 |
| | FT | 0,26 | 0,22 | 0,18 | 0,10 | 1,10 | 0,56 |
| Z4 | FB | 1,29 | 0,40 | 0,12 | 0,01 | 0,63 | 0,06 |
| | FT | 2,81 | 1,54 | 1,33 | 0,29 | 1,19 | 0,09 |
| Todas las zonas | Media FB | 0,26 | 0,10 | 0,11 | 0,03 | 1,16 | 0,29 |
| | Media FT | 1,07 | 0,53 | 0,48 | 0,22 | 1,29 | 0,34 |

Continuación ANEXO IV

| <i>Sida rhombifolia</i> | | | | | | | |
|-------------------------|----------|-------------|---------------------|-------|---------------------|-------------|---------------------|
| Zona estudiada | FB y FT | Cr | | Pb | | Zn | |
| | | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar | Media | Desviación estándar |
| Z0 | FB | 0,08 | 0,01 | 0,42 | 0,04 | 1,56 | 0,46 |
| | FT | 0,98 | 0,44 | 0,38 | 0,07 | 1,00 | 0,42 |
| Z1A | FB | 0,07 | 0,01 | 0,02 | 0,01 | 0,87 | 0,12 |
| | FT | 2,23 | 0,31 | 1,15 | 1,21 | 1,49 | 0,43 |
| Z1B | FB | 0,03 | 0,01 | 0,02 | 0,00 | 1,71 | 0,16 |
| | FT | 0,28 | 0,05 | 0,20 | 0,05 | 0,92 | 0,19 |
| Z1C | FB | 0,46 | 0,03 | 0,45 | 0,36 | 0,84 | 0,00 |
| | FT | 2,96 | 1,76 | 0,97 | 0,62 | 0,96 | 0,07 |
| Z2A | FB | 0,06 | 0,02 | 0,02 | 0,00 | 3,96 | 0,87 |
| | FT | 1,72 | 1,76 | 0,55 | 0,30 | 1,57 | 0,42 |
| Z2B | FB | 0,01 | 0,00 | 0,27 | 0,09 | 5,03 | 0,95 |
| | FT | 0,57 | 0,21 | 0,37 | 0,08 | 0,77 | 0,11 |
| Z2C | FB | 0,05 | 0,02 | 0,06 | 0,01 | 0,80 | 0,06 |
| | FT | 0,38 | 0,12 | 0,32 | 0,09 | 0,97 | 0,04 |
| Z3A | FB | 0,22 | 0,05 | 0,01 | 0,00 | 0,39 | 0,07 |
| | FT | 1,88 | 0,47 | 0,75 | 0,27 | 0,75 | 0,05 |
| Z3B | FB | 0,41 | 0,33 | 0,05 | 0,03 | 0,29 | 0,11 |
| | FT | 1,80 | 1,23 | 1,03 | 0,76 | 0,38 | 1,25 |
| Z3C | FB | 0,01 | 0,00 | 0,25 | 0,04 | 0,21 | 0,08 |
| | FT | 1,02 | 0,20 | 0,49 | 0,24 | 1,02 | 0,03 |
| Z4 | FB | 0,08 | 0,01 | 0,19 | 0,04 | 0,39 | 0,25 |
| | FT | 0,19 | 0,07 | 0,27 | 0,02 | 0,86 | 0,43 |
| Todas las zonas | Media FB | 0,13 | 0,05 | 0,16 | 0,06 | 1,46 | 0,28 |
| | Media FT | 1,27 | 0,58 | 0,59 | 0,34 | 1,24 | 0,31 |

ANEXO V. Valores p obtenidos mediante la prueba de Conover en comparaciones por pares de especies de los valores de FT (triángulo inferior, marcado en gris) y FB (triángulo superior, marcado en blanco) para Cr, Pb y Zn. Valores de p significativos ($p < 0,05$) se han marcado en negrita.

| Cr | <i>Acalypha alopecuroides</i> | <i>Achyranthes aspera</i> | <i>Amaranthus dubius</i> | <i>Bidens pilosa</i> | <i>Heliotropium angiospermum</i> | <i>Parthenium hysterophorus</i> | <i>Sida rhombifolia</i> |
|----------------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| <i>Acalypha alopecuroides</i> | | 0,00926 | 0,59750 | 0,01234 | 0,34381 | 0,11291 | 0,06059 |
| <i>Achyranthes aspera</i> | 0,00925 | | 0,02409 | 0,91061 | 0,07471 | 6,3e⁻⁰⁶ | 0,43077 |
| <i>Amaranthus dubius</i> | 0,98167 | 0,00446 | | 0,03185 | 0,64703 | 0,02184 | 0,14271 |
| <i>Bidens pilosa</i> | 0,01340 | 0,88438 | 0,00686 | | 0,09432 | 1,0e⁻⁰⁵ | 0,49858 |
| <i>Heliotropium angiospermum</i> | 0,55732 | 0,00064 | 0,54164 | 0,00105 | - | 0,00636 | 0,31812 |
| <i>Parthenium hysterophorus</i> | 0,02713 | 0,64691 | 0,01544 | 0,75534 | 0,00266 | - | 0,00019 |
| <i>Sida rhombifolia</i> | 0,23549 | 0,12242 | 0,19029 | 0,16104 | 0,05693 | 0,26926 | - |

| Pb | <i>Acalypha alopecuroides</i> | <i>Achyranthes aspera</i> | <i>Amaranthus dubius</i> | <i>Bidens pilosa</i> | <i>Heliotropium angiospermum</i> | <i>Parthenium hysterophorus</i> | <i>Sida rhombifolia</i> |
|----------------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| <i>Acalypha alopecuroides</i> | | 0,0130 | 0,0830 | 0,3952 | 0,8754 | 0,0172 | 0,0023 |
| <i>Achyranthes aspera</i> | 1,7e⁻⁰⁵ | | 0,4230 | 0,0920 | 0,0178 | 0,8865 | 0,5900 |
| <i>Amaranthus dubius</i> | 0,00412 | 0,11762 | | 0,3670 | 0,1088 | 0,5033 | 0,1740 |
| <i>Bidens pilosa</i> | 0,00016 | 0,53213 | 0,33793 | | 0,4810 | 0,1168 | 0,0243 |
| <i>Heliotropium angiospermum</i> | 0,09726 | 0,00548 | 0,21122 | 0,02784 | | 0,0235 | 0,0033 |
| <i>Parthenium hysterophorus</i> | 1,3e⁻⁰⁶ | 0,60911 | 0,03544 | 0,24892 | 0,00089 | | 0,4888 |
| <i>Sida rhombifolia</i> | 0,00012 | 0,58349 | 0,30030 | 0,93800 | 0,02285 | 0,28214 | |

Continuación ANEXO V

| Zn | <i>Acalypha alopecuroides</i> | <i>Achyranthes aspera</i> | <i>Amaranthus dubius</i> | <i>Bidens pilosa</i> | <i>Heliotropium angiospermum</i> | <i>Parthenium hysterophorus</i> | <i>Sida rhombifolia</i> |
|--------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| <i>Acalypha alopecuroides</i> | | 1,5e⁻¹¹ | 0,00029 | 2,3e⁻⁰⁹ | 0,00136 | 0,01736 | 0,64883 |
| <i>Achyranthes aspera</i> | 0,17664 | | 0,00035 | 0,37302 | 5,9e⁻⁰⁵ | 1,2e⁻⁰⁶ | 2,6e⁻¹¹ |
| <i>Amaranthus dubius</i> | 0,02831 | 0,37003 | | 0,00716 | 0,64582 | 0,17720 | 0,00080 |
| <i>Bidens pilosa</i> | 0,00301 | 0,08292 | 0,39587 | | 0,00173 | 6,9e⁻⁰⁵ | 5,1e⁻⁰⁹ |
| <i>Heliotropium angiospermum</i> | 0,01588 | 0,25837 | 0,81448 | 0,53750 | | 0,37252 | 0,00364 |
| <i>Parthenium hysterophorus</i> | 0,52764 | 0,44685 | 0,09829 | 0,01322 | 0,05938 | | 0,04192 |
| <i>Sida rhombifolia</i> | 0,48997 | 0,03204 | 0,00252 | 0,00014 | 0,00116 | 0,16420 | |

CAPÍTULO 4. ENSAYOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA TOLERANCIA Y LOS NIVELES DE BIOACUMULACIÓN DE PLOMO POR DIVERSOS TAXONES DE INTERÉS AGRONÓMICO

4.1. INTRODUCCIÓN

4.1.1. EFECTOS DEL PLOMO SOBRE EL MEDIO AMBIENTE Y LAS PLANTAS

La contaminación ambiental causada por elementos traza como el Pb, que no es esencial para el crecimiento y el metabolismo de las plantas, representa una amenaza para el medio ambiente y para el ser humano a través de su acumulación en la cadena alimentaria (Wenzel *et al.*, 2003). Este contaminante, junto con otros presentes en el suelo y el agua, tienen un origen natural, o bien son contaminantes generados por actividades humanas (Weiqiang *et al.*, 2005).

En sitios contaminados con Pb y otros metales pesados, la estructura de la vegetación y la biodiversidad en general se encuentra reducida; usualmente se observa que forma agrupaciones desiguales y los árboles están esparcidos o ausentes (Wierzbicka y Obidzinska, 1998). Las altas concentraciones de metales pesados en las plantas tienden a inhibir la germinación de las semillas, el crecimiento y el desarrollo de los explantes, además de alterar muchos procesos fisiológicos y bioquímicos (Sanita di Toppi y Gabbrielli, 1999). Afectan también a la radícula saliente y al crecimiento de la planta; Monni *et al.*, 2001). Los metales pesados pueden penetrar a través de la cubierta de la semilla, lo que impide su germinación (Wierzvicka y Obidzinska, 1998).

El exceso de Pb inhibe la fotosíntesis y la actividad enzimática, produce daños estructurales de la membrana celular y perturba el equilibrio del agua y de los nutrientes minerales; todos estos factores pueden acabar por inducir síntomas de intoxicación, incluyendo el retraso en el crecimiento y la clorosis en las plantas (Sharma y Dubey, 2005).

4.1.2. ADAPTACIONES DE LAS PLANTAS A LA CONTAMINACIÓN POR PLOMO

Los metales pesados (incluyendo el Pb) son tóxicos para las plantas cuando sus concentraciones exceden ciertos umbrales, pero también puede ser tóxicos a bajas concentraciones (Mudgal *et al.*, 2010). La tolerancia de una determinada especie vegetal frente a la presencia de altas concentraciones de metales en el medio puede afectar en gran medida a su utilidad en el campo de la fitorremediación; p. ej., el Pb causa una reducción

significativa del crecimiento de las plantas, algo que es claramente desfavorable para su función fitorremediadora, ya que las plantas con mayor biomasa pueden acumular más metales (He y Li, 2010; Nagajyoti *et al.*, 2010). Por otra parte, aquellas especies que poseen fuertes mecanismos detoxificadores, presentan unas mayores tasas de supervivencia en ambientes altamente contaminados (Nagajyoti *et al.*, 2010).

Sin embargo, existen especies vegetales endémicas de suelos metalíferos que pueden tolerar grandes e inusuales cantidades de metales u otros componentes tóxicos (Banuelos *et al.*, 1997; Dahmani-Muller *et al.*, 2000; Raskin y Ensley, 2000). Se ha confirmado que en este tipo de plantas tolerantes a la presencia de metales pesados, como el Pb, las raíces tienen una habilidad para captar cantidades significativas de Pb mientras que, simultáneamente, se restringe su desplazamiento hacia las partes aéreas (Raskin y Ensley, 2000).

Es sabido que una gran parte del Pb captado por las plantas permanece en las raíces (Kumar *et al.*, 1995) y que la distribución de metales pesados en las células y tejidos de las plantas varía dependiendo en la concentración del metal en el medio, de la duración de la exposición y de las propiedades físicas y químicas del ión, lo que determina la factibilidad de que éste pase a través de las barreras fisiológicas (Banuelos *et al.*, 1997). La disponibilidad del Pb depende de las condiciones del suelo, como el tamaño de partícula, la capacidad de intercambio catiónico y de factores de las plantas, como la superficie y exudados de la raíz, micorrización y de la transpiración (Sharma y Dubey, 2005).

4.1.3. SELECCIÓN DE PLANTAS FITORREMEIADORAS DE ENTORNOS CONTAMINADOS POR PLOMO

La evolución experimentada por las tecnologías fitorremediadoras nos lleva hacia un nuevo concepto, el de las fitotecnologías, que a través un adecuado manejo de las plantas seleccionadas consigue compatibilizar la restauración ambiental con un uso de la tierra contaminada y la producción de bienes y servicios de interés económico (LeDuc y Terry, 2005). Eso significa que estas fitotecnologías ya no tienen el único objetivo de la recuperación del suelo, sino también de generar beneficios económicos, y esto hace necesario reorientar las líneas de investigación actuales hacia aspectos más aplicados.

El éxito de cualquier estrategia de fitorremediación depende de la identificación de especies de plantas adecuadas, que acumulen altas concentraciones de metales y produzcan

grandes cantidades de biomasa; pocas son las especies de plantas adaptadas a sobrevivir en suelos contaminados con altas concentraciones de metales (Reeves, 1992). Estas especies se dividen principalmente en dos grupos: las llamadas pseudometalófitas, que crecen tanto en suelos no contaminados como en suelos contaminados, y las metalófitas, que crecen solo en suelos contaminados con metales y/o naturalmente ricos en ellos (Baker *et al.*, 2000).

Como se ha mencionado en capítulos anteriores, se considera que una planta es hiperacumuladora cuando la concentración de Pb, p. ej., es al menos de 1.000 mg/kg en la materia seca de cualquier tejido aéreo cuando la planta crece en su hábitat natural (Reeves, 1992). Generalmente las concentraciones en brotes, usadas como criterio para definir especies hiperacumuladoras, se encuentran entre 1 y 5% en peso seco (Baker *et al.*, 2000).

La superficie de la raíz de las plantas hiperacumuladoras está específicamente desarrollada para captar los nutrientes elementales presentes en el suelo y en soluciones; algunas especies liberan componentes que atrapan los metales en la rizosfera, lo cual ayuda a su solubilización y captación, como en el caso del Fe (Ma y Nomoto, 1996), el Al (Pellet *et al.*, 1995) y, posiblemente, el Zn (Ma y Nomoto, 1996). El principal mecanismo por el que las plantas pueden tolerar altas concentraciones de contaminantes en el sustrato puede ser resultado de la exclusión de los elementos tóxicos de los sitios celulares, donde se llevan a cabo los procesos vitales, tales como la división celular y la respiración, lo que provee a la planta con un efectivo mecanismo de protección (Chaney *et al.*, 1997; Witters *et al.*, 2009).

Se ha reportado una gran biodiversidad de especies con potencial, probado en campo y en laboratorio, para la fitorremediación. Hasta la fecha se han identificado varios cientos de taxones de plantas, pertenecientes a medio centenar de familias, tolerantes a los metales y capaces de crecer en sustratos con concentraciones elevadas de estos elementos tóxicos. Entre las angiospermas se han identificado cerca de 400 taxones hiperacumuladores, pertenecientes básicamente a ocho familias dominantes: Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunoniaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae y Violaceae (Salas Salmerón, 2007). De estas familias, Brassicaceae es la que tiene el mayor número de taxones con capacidad para hiperacumular metales: 11 géneros y 87 especies, (Volke Sepúlveda *et al.*, 2005).

4.1.4. TAXONES VEGETALES DE INTERÉS PARA LA FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR PLOMO EN HAINA

Los grupos de plantas de interés para las labores de fitorremediación pueden ser tanto especies silvestres presentes en la zona de estudio, aspecto ya tratado en el capítulo 3 de la presente memoria, como taxones cultivados de interés comercial, que son los que se abordan en el presente capítulo, con la finalidad de buscar la generación de un valor añadido al proceso fitorremediador mediante la producción de bienes de interés económico de forma simultánea a la labor restauradora (LeDuc y Terry, 2005).

Por esta razón, las plantas se han seleccionado considerando su actual y potencial interés comercial para la zona de Haina, en particular, y la República Dominicana, en general, como puede ser la producción de biocombustibles, productos agrícolas no consumibles, madera, flores, e inclusive frutos u otros órganos comestibles, cuando éstos no presenten elevados niveles de acumulación de elementos tóxicos (Licht e Isebrands, 2005; Lewandowski *et al.*, 2006). Además, el utilizar especies cultivadas en la zona, facilitaría la posterior implantación de su cultivo en las áreas a restaurar por parte de los agricultores locales.

En consecuencia, el presente trabajo se centró en el estudio del efecto del Pb sobre el crecimiento de diversas plantas de interés agronómico en la República Dominicana, por ser éste el principal elemento contaminante de los suelos de Haina, sobre todo en el entorno de la antigua fábrica de baterías. Se seleccionaron taxones pertenecientes a los géneros *Ananas* Mill., *Chrysanthemum* L., *Dioscorea* L. y *Musa* L. y se estudiaron en un sistema de cultivo *in vitro*. Se midieron las variaciones en los niveles de crecimiento, así como de acumulación de este elemento en las plantas, con la finalidad de examinar los mecanismos de tolerancia y resistencia de éstas al Pb. El estudio se realizó durante varias semanas con el objetivo de simular el proceso real de la fitorremediación.

La aptitud de algunas plantas cultivadas para ser utilizadas en actividades de fitorremediación ha emergido como una de sus principales utilidades a la hora de abordar el problema de los contaminantes metálicos en la biosfera (Lewandowski *et al.*, 2006).

El presente estudio pretende ayudar a evaluar la eficacia que presentan algunas especies, cultivariedades o grupos genómicos de los géneros *Ananas*, *Chrysanthemum*, *Dioscorea* y *Musa* bajo el estrés que supone la contaminación del sustrato por metales

pesados para labores de fitorremediación. La información sobre el impacto de los metales pesados en los tejidos de estas especies sigue siendo poca y fragmentaria, razón por la cual se llevó a cabo la presente investigación. El metal pesado seleccionado para el estudio, el Pb, es no esencial y tóxico para las plantas.

Por lo tanto, este estudio se plantea con el objetivo de evaluar la cantidad de biomasa aérea y de metal acumulado en los tejidos de diversos taxones de interés agronómico, en plantas crecidas en sustratos con distinto nivel de contaminación, y así poder evaluar su potencial fitorremediador.

4.2. MATERIAL Y MÉTODOS

4.2.1. ESPECIES VEGETALES OBJETO DE ESTUDIO

Tras evaluar las especies de plantas cultivadas de interés comercial más frecuentes en la zona de Haina o con potencial futuro para este fin, se seleccionaron un total de nueve taxones pertenecientes a cuatro géneros y familias distintas, en función de su abundancia en los cultivos, porte, características biológicas e interés para la población. Todos ellos son de interés agronómico, bien por su carácter ornamental (*Chrysanthemum*) o bien por su carácter alimenticio (*Ananas* y *Musa* por sus frutos y *Dioscorea* por sus tubérculos), de tal forma que pudieran generar un valor añadido complementario al de la restauración ambiental.

La capacidad de acumulación de elementos traza como el Pb, que presentan algunas especies de los géneros *Ananas* (Ang *et al.*, 2010; Promnim, 2012), *Chrysanthemum* (Abdullah y Sarem, 2010; Mani *et al.*, 2015), *Dioscorea* (Mkumbo *et al.*, 2012; Oti Wilberforce y Nwabue, 2013) y *Musa* (Visoottiviseth *et al.*, 2002; Bansah y Addo, 2016;), ha sido constatada por estudios previos.

Las plantas utilizadas en estos experimentos se obtuvieron de la colección de trabajo del Instituto de Innovación en Biotecnología e Industria de Santo Domingo, República Dominicana (IIBI).

Para evaluar el potencial de acumulación y tolerancia frente al Pb, las plantas se hicieron crecer *in vitro*, en medios de crecimiento con diferentes niveles de contaminación.

No obstante, lo que se ha medido en esta experiencia es la acumulación en tejidos vegetativos y la tolerancia ante cantidades crecientes de Pb en el sustrato, si bien serían las

partes comestibles, es decir los frutos y tubérculos (para el caso de *Ananas*, *Dioscorea* y *Musa*) las de mayor importancia, y por tanto su contenido en Pb habría de ser evaluado en futuros estudios.

Las especies, cultivariedades y grupos genómicos escogidos, nombres comunes en el área de estudio y las familias a las que pertenecen se enumeran a continuación. Para la nomenclatura se ha seguido The Plant List (2013) y el Código Internacional de Nomenclatura para Plantas Cultivadas (Brickell *et al.*, 2009).

Ananas comosus (L.) Merr., Piña, Bromeliaceae.

Chrysanthemum 'Reyellow', Crisantemo reyellow, Asteraceae.

Chrysanthemum 'Renella', Crisantemo renella, Asteraceae.

Chrysanthemum 'Sheena', Crisantemo sheena, Asteraceae.

Dioscorea trifida L.f., Mapuey, Dioscoreaceae.

Musa acuminata Colla (= *Musa corniculata* Kurz), Rulo, Musaceae.

Musa × *paradisiaca* L. (*Musa sapientum* L.), Guineo, Musaceae.

Musa Grupo AAB, Plátano MxH, Musaceae.

Musa Grupo AAAB, Plátano FHIA-21, Musaceae.

Las características más importantes de las plantas, su carácter nativo o introducido en la República Dominicana y su utilidad en la zona de estudio son las siguientes:

Ananas comosus (Figura 4.1)

Planta terrestre, herbácea, perenne, de 1,5-2,0 m de altura, que no produce estolones. Tallo en forma de maza, de hasta 50 cm de longitud y 8 cm de anchura. Hojas dispuestas en espiral, envainadoras, formando una roseta densa, lanceoladas, de 20-30 cm de longitud, con los márgenes a veces provistos de espinas. Inflorescencia terminal densamente estrobiliforme, de 20-30 cm de longitud, dispuesta sobre un escapo y usualmente coronada por un penacho de brácteas estériles foliáceas. Flores generalmente hermafroditas, sésiles, pequeñas, púrpuras o rojas, acompañadas cada una por una bráctea

carnosa rojiza, amarillenta o verdosa; perianto compuesto de 3 sépalos y 3 pétalos libres; androceo con 6 estambres; gineceo con ovario tricarpelar, ínfero. Fruto en baya formando una infrutescencia voluminosa y carnosa (cenocarpo) carente de semillas (Kubitzki, 1998; Devesa Alcaraz y Carrión García, 2012; Royal Botanic Gardens KewScience, 2017).

Nativa en casi toda Sudamérica, excepto en la mayor parte de Argentina, Chile y Uruguay; introducida en la República Dominicana (Royal Botanic Gardens KewScience, 2017).

Se cultiva por sus frutos carnosos comestibles, que son una parte importante de la dieta de la población de la República Dominicana. También se preparan bebidas refrescantes y alcohólicas a partir de ellos.

Género *Chrysanthemum* (Figura 4.2)

Plantas herbáceas o sufruticosas, anuales o perennes, que alcanzan hasta 1,5 m de altura, aromáticas. Tallos erectos o patentes, frondosos. Hojas alternas, pinnatisectas, lobadas, serradas o raramente enteras. Inflorescencia en capítulos solitarios o en carimbos laxos, pedunculados, radiados; involucros con brácteas herbáceas, en 2-4 filas, generalmente con márgenes escariosos parduscos; receptáculos convexos, generalmente sin páleas (sólo algunas cultivariedades las presentan). Lígulas femeninas, fértiles, con limbo blanco, rosado o amarillento; flósculos hermafroditas, fértiles, corola con cinco lóbulos, amarilla o blanca. Androceo sinántero, con 5 estambres soldados a la corola. Gineceo bicarpelar, ínfero. Fruto en aquenio, obovoide, con 5-8 costillas, sin vilano. El género incluye 41 especies distribuidas por Asia y el E de Europa. Algunas especies son ampliamente cultivadas como ornamentales (Kadereit y Jeffrey, 2007; Devesa Alcaraz y Carrión García, 2012).

Se estudiaron tres cultivariedades comerciales, cuyos nombres registrados son 'Renella', 'Reyellow' y 'Sheena'.

Son importadas en la República Dominicana como plantas ornamentales en maceta para su uso en jardinería y como flor cortada para decoraciones de eventos sociales.

Dioscorea trifida (Figura 4.3)

Planta herbácea, trepadora, con tubérculos caulinares esféricos o en forma de maza, hasta de 75 cm de longitud, producidos por engrosamiento de los extremos de estolones procedentes del primer complejo nodal del tallo, cada planta tiene 5-10 estolones. Tallos aéreos volubles, que presentan 2-8 alas membranosas prominentes. Hojas simples, alternas (raramente opuestas), largamente pecioladas y limbo palmatilobado, con 3-7 lóbulos, de hasta de 25 cm de anchura, margen entero. Inflorescencias en racimos. Flores unisexuales en plantas dioicas, trímeras; perianto con 6 tépalos sepaloideos; androceo con 6 estambres soldados a los tépalos, a veces reducidos a estaminodios; gineceo tricarpelar, ínfero. Fruto en cápsula loculicida (León, 1978; Martin y Degras, 1978; Devesa Alcaraz y Carrión García, 2012).

Nativa en Centroamérica y el norte de Sudamérica; introducida en la República Dominicana (Royal Botanic Gardens KewScience, 2017)

Se cultiva por sus tubérculos ricos en almidón que son usados como alimento por la población de la República Dominicana.

Género *Musa* (Figura 4.4)

Plantas herbáceas, a veces parcialmente leñosas, perennes, que producen retoños vegetativos, generalmente de gran tamaño, que alcanzan 6-10 m de altura, rizomatosas. Hojas de gran tamaño, dispuestas en espiral, pecioladas y con grandes vainas que propician un pseudotallo alrededor del escapo del que parten las flores, limbo oblongo, a menudo escindido en lacinias. Inflorescencia racemosa, largamente pedunculada (escapo), que parte directamente del rizoma, protegida por brácteas grandes y carnosas (espatas) caducas. Flores trímeras, hermafroditas o por lo común funcionalmente unisexuales en plantas monoicas, con las flores femeninas hacia la base de la inflorescencia y las masculinas en la parte superior; perianto zigomorfo con 5 tépalos petaloideos soldados formando una estructura pentalobulada o pentadentada y otro tépalo interno reducido a una escama, libres y simples; androceo constituido por 5-6 estambres, a veces uno de ellos transformado en un estaminodio; ovario ínfero, trilocular. Fruto en baya, a menudo en infrutescencias. El género *Musa* consta de 30-40 especies e incluye las llamadas bananeras y plataneras y son los representantes cultivados con mayor interés para el hombre, muchos de ellos son

triploides (*M. acuminata* Colla) o híbridos partenocárpicos (*Musa* × *paradisiaca* L.) (Kubitzki, 1998; Devesa Alcaraz y Carrión García, 2012).

La mayoría de cultivariedades de plátano y banano de esta familia tiene origen en dos especies silvestres: *Musa acuminata* y *M. balbisiana* Colla, que por poliploidía e hibridación generan las variedades cultivadas; la composición ploídica y genómica de los diferentes grupos genómicos representan a *M. acuminata* y *M. balbisiana*, respectivamente, como A y B (Belalcázar, 1991; Sierra, 1993).

Se seleccionaron cuatro taxones: la especie silvestre *Musa acuminata*, la especie de origen híbrido *Musa* × *paradisiaca* y dos grupos genómicos diferentes (AAB y AAAB).

Musa acuminata es nativa del SW Asiático, India y Tanzania y *Musa* × *paradisiaca* de Filipinas y Malasia; ambas especies han sido introducidas en la República Dominicana (Royal Botanic Gardens KewScience, 2017), así como los dos grupos genómicos seleccionados: el el triploide, *Musa* Grupo AAB y el tetraploide, *Musa* Grupo AAAB.

Las bananas o plátanos, cultivados en sus múltiples variantes, son un importante componente de la dieta de la población de la República Dominicana.



Figura 4.1. *Ananas comosus* (Fuente: Plantfinder, http://www.gardensonline.com.au/GardenShed/PlantFinder/Show_2751.aspx)



Figura 4.2. *Chrysanthemum*: **a.** cultivariedad 'Renella', **b.** cultivariedad 'Reyellow', **c.** cultivariedad 'Sheena' (Fuentes: a. Sierraflowerfinder, <http://www.sierraflowerfinder.com/en/d/renella-lavender/4436>; b. Bakker.com, <https://www.bakker.com/en-ie/p/tisento-potted-chrysanthemum-yellow-M41738>; c. Triflor di Tricarino Luigi, <http://www.triflor.it/main/crisantemi.php?id=70&cat=10&prod=1205>)



Figura 4.3. *Dioscorea trifida*: a, b. tallos aéreos; c, d, e. tubérculos (Fuente: Nascimento *et al.*, 2015)



Figura 4.4. *Musa acuminata* (Fuente: Wikipedia, https://en.wikipedia.org/wiki/Musa_acuminata)

4.2.2. CULTIVOS *IN VITRO*

La experiencia se basó en el cultivo *in vitro* de las diferentes plantas seleccionadas con la finalidad de poder evaluar en exclusividad y sin interferencia de otros elementos traza o factores no controlables, la tolerancia y bioacumulación de cada taxón frente a diferentes concentraciones de Pb en el sustrato de crecimiento.

Se tomaron los extremos de los tallos de plantas crecidas en vivero durante 6 semanas. Cada fragmento, de 1 cm de longitud y 1 cm de diámetro aproximadamente, contenía los extremos meristemáticos, es decir el punto vegetativo apical y las hojitas jóvenes más próximas, que tienen la capacidad de crecer rápidamente.

Antes de la inoculación en condiciones *in vitro*, las plantas se limpiaron con jabón líquido y se enjuagaron con agua destilada. A continuación se colocaron en una solución de etanol al 70% durante 20-30 s, se volvieron a enjuagar con agua desionizada estéril y se colocaron en una solución al 10% (p/v) de hipoclorito sódico al 1,58% durante unos 20-30 min. Posteriormente, se enjuagaron tres veces más con agua desionizada estéril.

Con la finalidad de inducir el crecimiento *in vitro*, las plantas desinfectadas se colocaron en frascos de vidrio de 100 ml de capacidad, conteniendo 20 ml del medio basal Murashige y Skoog (MS) suplementado con 3% de sacarosa, a un pH de 5,7 y solidificado con 6,3 g/L de agar (Tabla 4.1, Figura 4.5).

Tabla 4.1. Composición del medio basal Murashige y Skoog

| Compuesto | mg/L |
|--|-------|
| NH ₄ NO ₃ | 1650 |
| KNO ₃ | 1900 |
| MgSO ₄ x 7H ₂ O | 370 |
| KH ₂ PO ₄ | 170 |
| CaCl ₂ x 2H ₂ O | 440 |
| EDTA-Na ₂ | 37,3 |
| FeSO ₄ x 7H ₂ O | 27,8 |
| H ₃ BO ₃ | 6,2 |
| MnSO ₄ x 4H ₂ O | 22,3 |
| ZnSO ₄ x 4H ₂ O | 8,6 |
| Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O | 0,25 |
| CuSO ₄ x 5H ₂ O | 0,025 |
| CoCl ₂ x 6H ₂ O | 0,025 |
| KI | 0,83 |

Para determinar el efecto de la concentración de Pb en el crecimiento de las plantas se les aplicó cinco tratamientos diferentes, consistentes en la adición al medio basal MS, de concentraciones de Pb ascendentes (0, 300, 600, 900 y 1500 mg/L) en forma de nitrato de Pb ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), lo que a efectos prácticos dieron concentraciones equivalentes en mg/kg o ppm del sustrato de crecimiento. Estas concentraciones se ajustaron a los rangos utilizados en estudios similares (García *et al.*, 2004) y englobaron los rangos a los que estos taxones podrían estar expuestos en los suelos de la zona de Haina.



Figura 4.5. Frascos con explantes y medio de cultivo (Fuente: propia)

Se hicieron tres réplicas de cada tratamiento para cada taxón. Por tanto se tomaron 15 muestras de cada uno de los nueve taxones y el número total de muestras tratadas ascendió a 135.

Los frascos con el sustrato de cultivo y los explantes se dispusieron en una sala climatizada para el crecimiento *in vitro* de plantas, disponible en el IIBI (Santo Domingo), con bombillas de iluminación marca Sylvania GroLux. En principio se dejaron crecer durante cinco semanas con un fotoperiodo de 16 h de luz y 8 h de oscuridad a 25 ± 2 °C. Transcurrido ese tiempo, se inició el tratamiento con Pb. Para ello las plántulas se transplantaron a los frascos que contenían el medio de cultivo al que se le había añadido el Pb y se dejaron incubar durante 12 semanas (Figura 4.5).

4.2.3. PROCESADO Y ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS VEGETALES

Una vez extraídas las plantas de los frascos donde se habían mantenido en cultivo, se lavaron inicialmente con agua del grifo, prestando especial atención a la limpieza de la parte radicular. Se utilizó un pincel con el fin de eliminar los restos de medio de cultivo y evitar producir daños en las raíces. Posteriormente se enjugaron dos veces con agua destilada.

A continuación se cuantificó el peso fresco y seco de las plantas y se midió la longitud de las raíces principales de los explantes cultivados.

Posteriormente se fragmentaron y se desecaron a 60 °C durante 48 h en estufa. Una vez secas se trituraron en un molino. Del producto obtenido en cada una de ellas se tomaron aproximadamente 5 g de peso seco. Para su pesada se utilizó una balanza de precisión Ohaus, modelo AR2140. Posteriormente se sometieron a digestión en un horno de microondas utilizando una mezcla de HNO₃ (concentración del 65%) y H₂O₂ (concentración del 30%) en una relación de 4:1, respectivamente (Li *et al.*, 2007). La composición elemental se analizó mediante Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA) (Thermo Scientific iCE 3000 Atomic Absorption Spectrometer) en el Laboratorio de Mineralogía del IIBI (República Dominicana). El análisis se llevó a cabo siguiendo las condiciones que indica el manual del equipo para la medición de Pb (Tabla 4.2). Los resultados se expresaron en ppm. La producción de biomasa se determinó como el peso seco de las plantas tras el cultivo tras las 12 semanas de tratamiento.

Tabla 4.2. Programa de operación para el horno de grafito establecido por el manual de uso del Espectroscopio de Absorción Atómica utilizado (Thermo Scientific iCE 3000)

| Paso | Temperatura (°C) | Tiempo (s) | Flujo de gas (L/min) |
|------|------------------|------------|----------------------|
| 1 | 85 | 4 | 3,0 |
| 2 | 95 | 40 | 3,0 |
| 3 | 120 | 10 | 3,0 |
| 4 | 400 | 5 | 3,0 |
| 5 | 400 | 1 | 3,0 |
| 6 | 400 | 2 | 0,0 |
| 7 | 2100 | 1 | 0,0 |
| 8 | 2100 | 2 | 0,0 |
| 9 | 2100 | 2 | 3,0 |

4.2.4. FACTOR DE BIOACUMULACIÓN

El Factor de Bioacumulación (FB) se utilizó para evaluar la capacidad fitoextractiva o bioacumuladora de Pb de cada uno de los taxones evaluados, al igual que se hizo para las plantas silvestres y cuya descripción figura en el capítulo 3 de la presente memoria, apartado 3.2.4. Tal como se mencionó en dicho apartado, el FB indica la eficiencia de las plantas en acumular en sus tejidos el metal presente en el sustrato en el que crece.

Para el cálculo de los valores del FB se usó el paquete estadístico R 3.3.1 (R Development Core Team, 2016) mediante un pequeño programa (*script*) que permitió la computación de todos los valores de forma simultánea y la elaboración de gráficas para visualizar los resultados de forma automatizada mediante el paquete ggplot2 (Wickham, 2009) disponible en *The Comprehensive R Archive Network* (CRAN) como parte opcional de R.

4.2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las medidas de estadística descriptiva estándar para las concentraciones de los metales como los valores medios y la desviación estándar se calcularon con el programa R 3.3.1 (R Development Core Team, 2016). Igualmente, para determinar las rectas de regresión entre variables se empleó el mismo programa.

Para la interpretación de los datos es importante estimar en qué proporción los valores observados se ajustan a la recta de regresión. Esta función la cumple el coeficiente de determinación R^2 con valores entre 0 y 1 y que no es otra cosa que el cuadrado del coeficiente de correlación. Un valor de 1 indica que los valores están perfectamente situados sobre la recta de regresión mientras que un valor de 0 significa que no existe correlación entre las variables. Si multiplicamos el valor de R^2 por cien se puede interpretar como el porcentaje de la variabilidad total observada que explica el modelo empleado (la recta de regresión).

La función *lm()* usada para este fin calcula también la probabilidad p de que la pendiente sea diferente de 0 que se indica en los gráficos. Las propiedades matemáticas de este valor p son tales que coinciden con la probabilidad p de que en una ANOVA salga significativa, por lo cual no es necesario calcular los resultados de una ANOVA mediante otra función como *aov()*. Puesto que una recta de regresión con una pendiente diferente de

O demuestra que por lo menos una de las concentraciones de Pb utilizadas difiere de las demás en cuanto a su valor esperado, pero no especifica cuántas difieren ni cuáles son, se ha usado la prueba de Conover (Conover e Iman, 1979) para identificar las especies con valores más altos o bajos en la concentración de metales. Esta prueba es no-paramétrica, de forma que no depende de las asunciones necesarias para llevar a cabo una ANOVA. Los cálculos necesarios se llevaron a cabo mediante el paquete PMCMR disponible bajo R (Pohlert, 2014). Para ajustar los valores de p en comparaciones múltiples se aplicó la corrección de Holm (1979).

Finalmente, para la presentación visual de los datos estadísticos en forma de diagramas se ha empleado el paquete ggplot2 (Wickham, 2009) dentro de R 3.3.1 (R Development Core Team, 2016)

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este estudio se ha adoptado el enfoque de evaluar el efecto de diversas concentraciones de Pb en el medio sobre varios taxones de carácter agronómico, con el fin de dilucidar aún más la acumulación y la tolerancia a la toxicidad del Pb de algunas especies, cultivariedades o grupos genómicos pertenecientes a los géneros *Ananas*, *Chrysanthemum*, *Dioscorea* y *Musa*. Asimismo se ha querido estimar el interés de éstos en la fitorremediación de ambientes contaminados por Pb, teniendo en cuenta que una planta ideal para tareas de fitoextracción sería aquella con una alta tasa de acumulación y una tolerancia prolongada, mientras que en el caso de la fitoestabilización debería ser igualmente tolerante pero sin llegar a acumular cantidades significativas del metal, debido a que tales atributos mejorarían la eficiencia del tratamiento y a la par reducirían los costes de recolección.

Los estudios con plantas *in vitro* suelen estar orientados a estimar la producción de biomasa vegetal en relación con la cantidad de contaminante en el sustrato, o a medir el crecimiento de las raíces, o bien a determinar la magnitud de la bioacumulación del elemento contaminante por parte de los diversos vegetales estudiados. Todos estos aspectos se presentan a continuación en relación a las plantas consideradas en sustratos a los que se han adicionado cantidades crecientes de Pb.

4.3.1. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE PLOMO EN EL MEDIO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA

La biomasa total de los taxones estudiados se ha examinado como una medida del crecimiento de la planta y su respuesta frente al estrés producido por el Pb en el medio. Se ha considerado el peso seco expresado en $g \pm$ su desviación estándar para cada planta utilizada y los distintos tratamientos con Pb: control (0 ppm), baja (300 ppm), media (600 ppm), media-alta (900 ppm) y alta (1500 ppm) (Tabla 4.3 y Figura 4.6). Estos datos reflejan los efectos de la toxicidad del Pb sobre las plantas.

Tabla 4.3. Producción de biomasa media (g de peso seco \pm desviación estándar) para cada taxón estudiado y tratamiento con diferentes concentraciones de Pb en el sustrato de cultivo. En las columnas que indican la cantidad de Pb en el sustrato se aporta además el valor p (obtenido mediante la prueba de Conover con la corrección de Holm) como la probabilidad de que la biomasa alcanzada con el tratamiento con Pb sea igual a la biomasa del control (0 ppm). Los valores de p significativos ($p < 0,05$) se han marcado en negrita.

| Taxón / Tratamiento | 0 ppm | 300 ppm | 600 ppm | 900 ppm | 1500 ppm |
|---|------------------|---------------------------------|--|--|---|
| <i>Ananas comosus</i> | 0,19 \pm 0,039 | 0,20 \pm 0,031 $p = 1,00$ | 0,14 \pm 0,016 $p = \mathbf{0,345}$ | 0,14 \pm 0,042 $p = 0,324$ | 0,08 \pm 0,023 $p = \mathbf{0,020}$ |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Renella' | 0,12 \pm 0,040 | 0,14 \pm 0,027 $p = 1,00$ | 0,14 \pm 0,027 $p = 1,00$ | 0,12 \pm 0,015 $p = 1,00$ | 0,11 \pm 0,034 $p = 1,00$ |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Reyellow' | 0,12 \pm 0,059 | 0,12 \pm 0,011 $p = 1,00$ | 0,13 \pm 0,015 $p = 1,00$ | 0,06 \pm 0,023 $p = 0,249$ | 0,05 \pm 0,011 $p = 0,076$ |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Sheena' | 0,21 \pm 0,021 | 0,16 \pm 0,001 $p = 0,112$ | 0,17 \pm 0,069 $p = 0,435$ | 0,05 \pm 0,018 $p = \mathbf{0,00086}$ | 0,07 \pm 0,012 $p = \mathbf{0,0029}$ |
| <i>Dioscorea trifida</i> | 0,21 \pm 0,045 | 0,15 \pm 0,030 $p = 1,00$ | 0,12 \pm 0,050 $p = 0,160$ | 0,20 \pm 0,044 $p = 1,00$ | 0,14 \pm 0,027 $p = 0,490$ |
| <i>Musa acuminata</i> | 0,12 \pm 0,008 | 0,13 \pm 0,023 $p = 1,00$ | 0,08 \pm 0,005 $p = 0,079$ | 0,08 \pm 0,026 $p = 0,073$ | 0,07 \pm 0,024 $p = \mathbf{0,039}$ |
| <i>Musa</i> \times <i>paradisiaca</i> | 0,13 \pm 0,010 | 0,13 \pm 0,037 $p = 1,00$ | 0,07 \pm 0,006 $p = 1,00$ | 0,18 \pm 0,223 $p = 1,00$ | 0,13 \pm 0,114 $p = 1,00$ |
| <i>Musa</i> Grupo AAB | 0,09 \pm 0,007 | 0,04 \pm 0,009 $p = 0,629$ | 0,03 \pm 0,009 $p = \mathbf{0,035}$ | 0,03 \pm 0,006 $p = \mathbf{0,016}$ | 0,03 \pm 0,001 $p = \mathbf{0,014}$ |
| <i>Musa</i> Grupo AAAB | 0,12 \pm 0,049 | 0,13 \pm 0,024 $p = 1,00$ | 0,07 \pm 0,008 $p = 0,076$ | 0,07 \pm 0,017 $p = \mathbf{0,042}$ | 0,05 \pm 0,012 $p = \mathbf{0,0041}$ |

Todos los taxones, con la excepción de *Musa* \times *paradisiaca*, presentaron una relación lineal negativa entre los valores de la biomasa de las plantas y la concentración

creciente de Pb en el sustrato, aunque esta correlación no fue significativa en los casos de *Chrysanthemum* 'Renella' y *Dioscorea trifida*, cuya disminución de la biomasa con el incremento de la concentración de Pb ha sido menos notoria.

Las interacciones entre la duración de la exposición y la concentración de Pb se ha evidenciado por la influencia sobre la producción de la biomasa de diferentes especies sometidas a tratamientos de Pb en el sustrato (Chen *et al.*, 2015). Así, se han observado reducciones notables en la biomasa a distintas concentraciones de Pb según el taxón. Por géneros, *Chrysanthemum* mostró dos cultivariedades (*Chrysanthemum* 'Sheena' y *Chrysanthemum* 'Reyellow') con reducciones de hasta el 75% a partir de concentraciones de Pb en el medio de 900 ppm y superiores, aunque en el caso de *Chrysanthemum* 'Reyellow' la prueba de Conover no resultó significativa (Tabla 4.3). A su vez, *Chrysanthemum* 'Renella', no mostró efectos significativos sobre la producción de biomasa en función de la concentración de Pb en el medio. Por otro lado, la especie *Ananas comosus* mostró una reducción de hasta el 25% en tratamientos de 600 y 900 ppm de Pb en el sustrato, reducción que se incrementó hasta el 42% en el caso del tratamiento con 1500 ppm de Pb, pero solamente este último valor ha resultado ser significativo. Por su parte, *Dioscorea trifida* mostró un comportamiento anómalo, con reducciones superiores al 25% a partir de las 300 ppm de Pb, excepto en el tratamiento de 900 ppm, que mostró una reducción más leve, casi inexistente, pero en ningún caso estos valores fueron diferentes del valor obtenido con el control. Por último, por lo que respecta al género *Musa*, tanto *Musa* Grupo AAAB como *Musa acuminata* mostraron descensos notables a partir de 600 ppm de Pb del 50 y el 35% respectivamente, mientras que en el caso de *Musa* Grupo AAB este descenso se presentó a partir de la presencia de tan solo 300 ppm de Pb en el medio, llegando en este caso hasta un 55% menos de biomasa que en los controles. Caso aparte es el comportamiento irregular de *Musa* × *paradisiaca*, que presentó una biomasa casi constante, con algún ligero incremento, inclusive en el tratamiento de 900 ppm de Pb, mostrando una reducción notable de hasta el 50% en el caso del tratamiento de 600 ppm, aunque la prueba de Conover no resultó significativa en este caso.

Los resultados obtenidos han indicado que la presencia de Pb en el medio acaba por disminuir la biomasa de forma significativa en la mayor parte de los tratamientos, en algún caso concreto a partir de 300 ppm de Pb en el medio, si bien en la mayoría de las plantas consideradas esta reducción se hizo notable a partir de la adición de 600 y 900 ppm de Pb al sustrato, lo que resulta coherente con estudios previos (Mishra *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2015).

También se pudo constatar que las plantas sometidas a las mayores concentraciones de Pb (900 y 1500 ppm) presentaron muchas bajas, o caídas de hojas y decaimiento general. Estos resultados mostraron, igualmente, que sólo en el tratamiento de 300 ppm, la mayor parte de los taxones estudiados fueron capaces de mantener un buen crecimiento durante todo el experimento, esencialmente similar al grupo control. Por el contrario, las plantas de los tratamientos 600, 900 y 1500 ppm, según el taxón de que se tratase, demostraron tener dificultades para mantener el crecimiento normal. Esto parece indicarnos, por tanto, la existencia de un fuerte impacto del Pb en el crecimiento, lo que puede deberse a que la toxicidad inducida por el metal interfiere con los procesos fisiológicos normales de estas plantas.

Estos resultados se pueden explicar con algunas teorías propuestas en otras investigaciones sobre la producción de biomasa y la tolerancia al Pb, a pesar de que no existe mucha información sobre el efecto de este metal en los diferentes taxones utilizados en este estudio.

Se ha demostrado que el Pb tiene un efecto notable sobre la nutrición mineral, el potencial hídrico y la estructura de la membrana celular (Yang *et al.*, 2000) y la consecuencia de todo ello es la reducción de la biomasa, tanto de la parte aérea como de la raíz. Algunos autores describen la inhibición del crecimiento como un síntoma claro del efecto del Pb (Yang *et al.*, 2000) u otros elementos como el Cd y el Zn (Dos Santos Utmazian *et al.*, 2007).

Una mayor tolerancia de una especie frente a un contaminante significa que esta capacidad le permite a la planta sobrevivir en un entorno más hostil. A este respecto, hay que destacar que a la hora de determinar la resistencia y tolerancia de cada especie a diferentes tipos de estrés como la sequía, luz alta, baja o alta temperatura, la salinidad, la radiación UV, ozono y metales pesados, resulta fundamental el sistema antioxidante (Mittler, 2002; Pourrut *et al.*, 2013). La concentración de Pb y el tiempo de exposición son aspectos que afectan de forma significativa al crecimiento de la planta, si bien el factor concentración tiene generalmente un efecto mayor que la duración (Chen *et al.*, 2015).

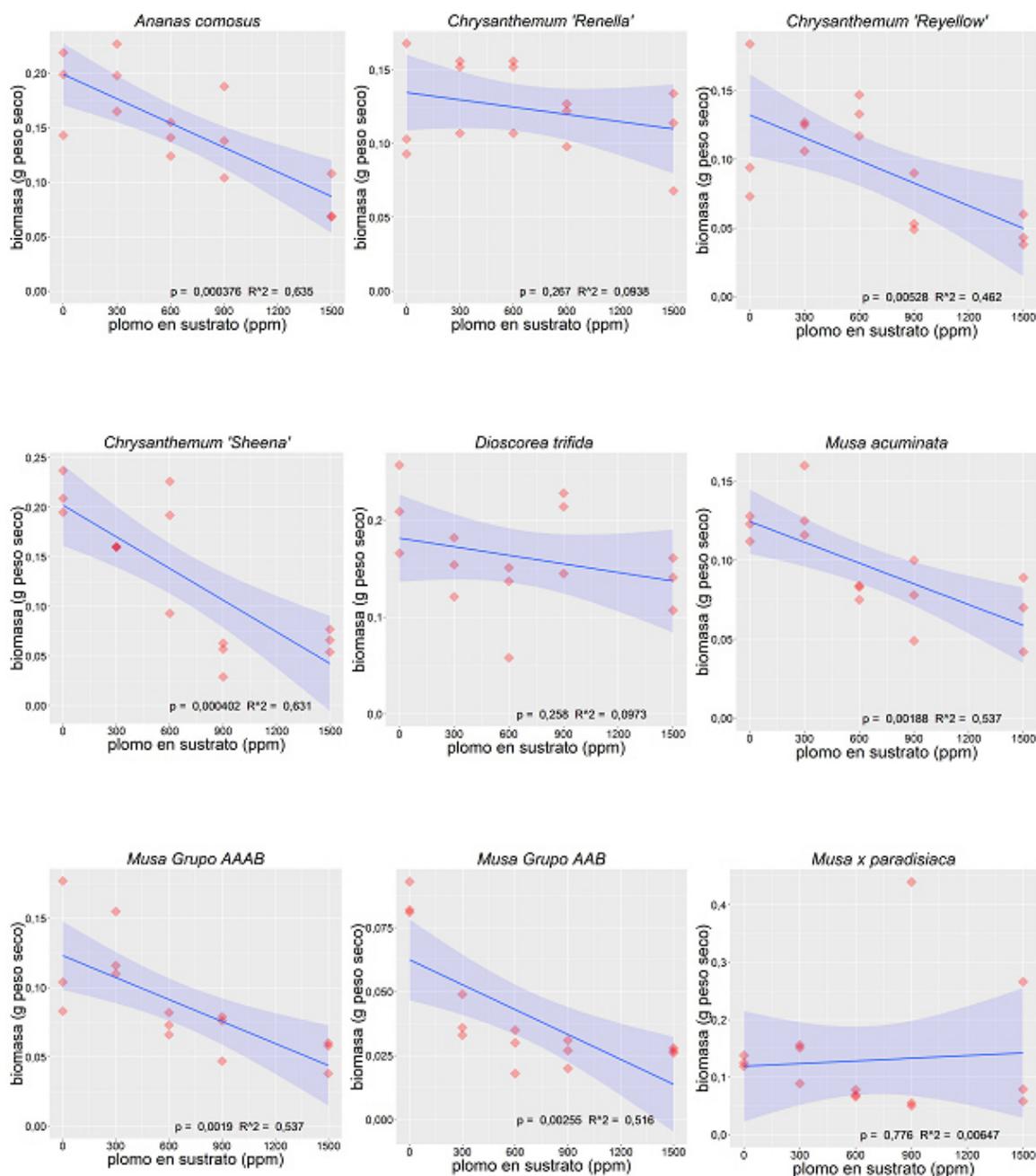


Figura 4.6. Representación gráfica de la producción de biomasa media (expresada en g de peso seco) conseguida por los taxones estudiados en cada uno de los tratamientos con Pb (expresados en ppm) tras 12 semanas de cultivo *in vitro*. La línea azul representa la recta de regresión lineal con el intervalo de confianza (95%) marcado por la zona de color azul oscuro. El valor de p indica la probabilidad de que la concentración de Pb no tenga ningún efecto significativo sobre la producción de biomasa.

En nuestro sistema experimental, la reducción de la biomasa tuvo lugar en los diferentes tratamientos solo para seis de los taxones estudiados. Así, tal y como se puede apreciar, tanto en la Figura 4.6 como en la Tabla 4.3, el aumento en la concentración de Pb ha tenido un efecto negativo en el crecimiento de la mayoría de las plantas, evaluado a través del peso seco total, como se ha constatado en *Ananas comosus*, *Chrysanthemum* 'Reyellow', *Chrysanthemum* 'Sheena', *Musa acuminata*, *Musa* Grupo AAB y *Musa* Grupo AAAB. Caso contrario es el de *Chrysanthemum* 'Renella', *Dioscorea trifida* y *Musa* × *paradisíaca*, que no presentaron efectos significativos en su producción de biomasa, lo que parece evidenciar una elevada tolerancia de estos tres taxones a la acción del Pb.

4.3.2. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE PLOMO EN EL MEDIO SOBRE EL CRECIMIENTO RADICAL

Los efectos de la toxicidad del Pb sobre la longitud de las raíces, estimada como indicador del estado de crecimiento y estrés en general de las plantas, se muestran en la Tabla 4.4 y la Figura 4.7. En ambas se observa la longitud de las raíces de los taxones considerados en función de los distintos tratamientos con Pb.

Todas las plantas estudiadas han presentado una relación lineal negativa e intensa entre los valores de la longitud radicular de las plantas y la concentración creciente de Pb en el sustrato. Así, se observó que todos los taxones se han visto afectados de forma significativa por el Pb en el sustrato. Esto se nota especialmente en *Ananas comosus* y los representantes del género *Musa*, que a partir de concentraciones de Pb entre 300 ppm y 600 ppm, prácticamente han inhibido el desarrollo de sus raíces.

Al igual que ocurre para la biomasa, se conoce el efecto que sobre la elongación radical presenta la exposición y la concentración de Pb en el sustrato de crecimiento de las plantas (Chen *et al.*, 2015). Así, se han observado reducciones notables en la longitud radical a distintas concentraciones de Pb según la planta.

Por géneros, *Chrysanthemum* mostró dos cultivariedades (*Chrysanthemum* 'Renella' y *Chrysanthemum* 'Sheena') con reducciones notables a partir de concentraciones bajas (300 ppm) de Pb en el sustrato (43 y 57%, respectivamente), con un crecimiento gradual hasta las 900 y 1500 ppm, en donde alcanzaron una reducción de hasta algo más del 75% y del 95%, respectivamente, cada una de ellas. La cultivariedad *Chrysanthemum* 'Reyellow' mostró efectos significativos sobre la longitud radical a partir

de las 600 ppm de Pb en el medio, con una reducción del 33%, que llegó hasta el 61% cuando esta concentración de Pb alcanzó las 1500 ppm. A su vez, la especie *Ananas comosus* mostró una reducción de hasta el 33% en el tratamiento más bajo (300 ppm), siendo su crecimiento prácticamente inexistente a partir de una concentración de Pb en el medio de 600 ppm. Por su parte, *Dioscorea trifida* mostró una importante reducción del 51% ya en la concentración más baja de Pb (300 ppm), con reducciones de hasta el 88% a partir de una concentración igual o superior a las 600 ppm de Pb. Finalmente, por lo que respecta al género *Musa*, *M. acuminata*, *Musa* × *paradisica* y Grupo AAAB mostraron descensos notables a partir de 300 ppm de Pb del 64, 48 y 38%, respectivamente, mientras que en el caso de *Musa* Grupo AAB, el crecimiento radical fue totalmente inhibido incluso con la concentración más baja de Pb en el medio, mostrando en este caso una intolerancia absoluta.

La longitud radicular muestra claramente como el Pb afecta al crecimiento de este parámetro conforme aumentan las concentraciones de Pb en el medio de cultivo, lo que se corresponde con la descripción de un síntoma visual no específico (Sharma y Dubey, 2005). Así, se han observado claras diferencias entre los tratamientos con y sin Pb (Figura 4.7). Esta tendencia es más acusada cuando comparamos los resultados de los taxones estudiados en las diferentes concentraciones de Pb, lo cual parece indicar que el agente responsable de la inhibición del crecimiento radical debe ser este metal.

Estos resultados mostraron, por otro lado, que incluso el menor de los tratamientos con Pb (300 ppm) ha sido capaz de producir reducciones significativas del crecimiento radicular de algunos de los taxones considerados (Tabla 4.4). Estos resultados, que indican una gran afectación del crecimiento radicular, son similares a los descritos por otros autores (Ruttens *et al.*, 2011), que encontraron que las plantas sometidas a altas concentraciones de Pb no tuvieron grandes efectos sobre las tasas de germinación de las semillas, pero sí sobre la elongación de las raíces y brotes con un carácter claramente negativo. El efecto menos claro se ha observado en *Chrysanthemum* 'Reyellow', en el cual, los diferentes tratamientos con Pb en el sustrato no se han diferenciado de forma significativa del control (0 ppm).

Tabla 4.4. Longitud media de las raíces (mm \pm desviación estándar) para cada taxón estudiado y tratamiento con diferentes concentraciones de Pb en el sustrato de cultivo. En las columnas que indican la cantidad de Pb en el sustrato, se aporta además el valor *p* (obtenido mediante la prueba de Conover con la corrección de Holm) como la probabilidad de que la biomasa alcanzada con el tratamiento con Pb sea igual a la biomasa del control (0 ppm). Los valores de *p* significativos (*p* < 0,05) se han marcado en negrita.

| Taxón / Tratamiento | 0 ppm | 300 ppm | 600 ppm | 900 ppm | 1500 ppm |
|--|------------------|--|--|--|--|
| <i>Ananas comosus</i> | 3,33 \pm 0,57 | 2,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 0,00086 | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 2,1e⁻⁷ | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 2,1e⁻⁷ | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 2,1e⁻⁷ |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Renella' | 20,67 \pm 8,02 | 12,47 \pm 2,54 <i>p</i> = 0,375 | 11,10 \pm 4,71 <i>p</i> = 0,289 | 5,23 \pm 0,87 <i>p</i> = 0,010 | 4,60 \pm 0,69 <i>p</i> = 0,004 |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Reyellow' | 8,77 \pm 3,02 | 11,97 \pm 4,05 <i>p</i> = 1,00 | 5,57 \pm 1,60 <i>p</i> = 0,460 | 6,60 \pm 2,25 <i>p</i> = 0,903 | 3,47 \pm 1,27 <i>p</i> = 0,141 |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Sheena' | 22,67 \pm 9,29 | 10,00 \pm 6,14 <i>p</i> = 0,648 | 6,93 \pm 5,40 <i>p</i> = 0,229 | 1,10 \pm 0,85 <i>p</i> = 0,020 | 1,50 \pm 0,401 <i>p</i> = 0,045 |
| <i>Dioscorea trifida</i> | 9,17 \pm 1,04 | 4,43 \pm 0,90 <i>p</i> = 0,619 | 0,97 \pm 0,81 <i>p</i> = 0,0044 | 1,40 \pm 0,17 <i>p</i> = 0,017 | 1,17 \pm 0,57 <i>p</i> = 0,0086 |
| <i>Musa acuminata</i> | 12,00 \pm 5,63 | 4,30 \pm 5,49 <i>p</i> = 0,430 | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 4,9e⁻⁵ | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 4,9e⁻⁵ | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 4,9e⁻⁵ |
| <i>Musa</i> \times <i>paradisiaca</i> | 9,77 \pm 2,04 | 5,17 \pm 2,08 <i>p</i> = 0,00068 | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 8,2e⁻⁸ | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 8,2e⁻⁸ | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 8,2e⁻⁸ |
| <i>Musa</i> Grupo AAB | 4,77 \pm 1,55 | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 7,6e⁻⁵ |
| <i>Musa</i> Grupo AAAB | 13,17 \pm 0,29 | 8,10 \pm 2,50 <i>p</i> = 0,0004 | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 4,3e⁻⁸ | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 4,3e⁻⁸ | 0,00 \pm 0,00 <i>p</i> = 4,3e⁻⁸ |

Este hecho parece ser una evidencia clara de la existencia de un fuerte impacto del Pb sobre el desarrollo de las raíces de las plantas afectadas. A este respecto, no hay que olvidar que el Pb se acumula principalmente en las raíces de las plantas, dada su difícil transferencia a las partes aéreas (Yoon *et al.*, 2006), lo que incrementa el riesgo de efectos deletéreos en estas partes subterráneas de las plantas.

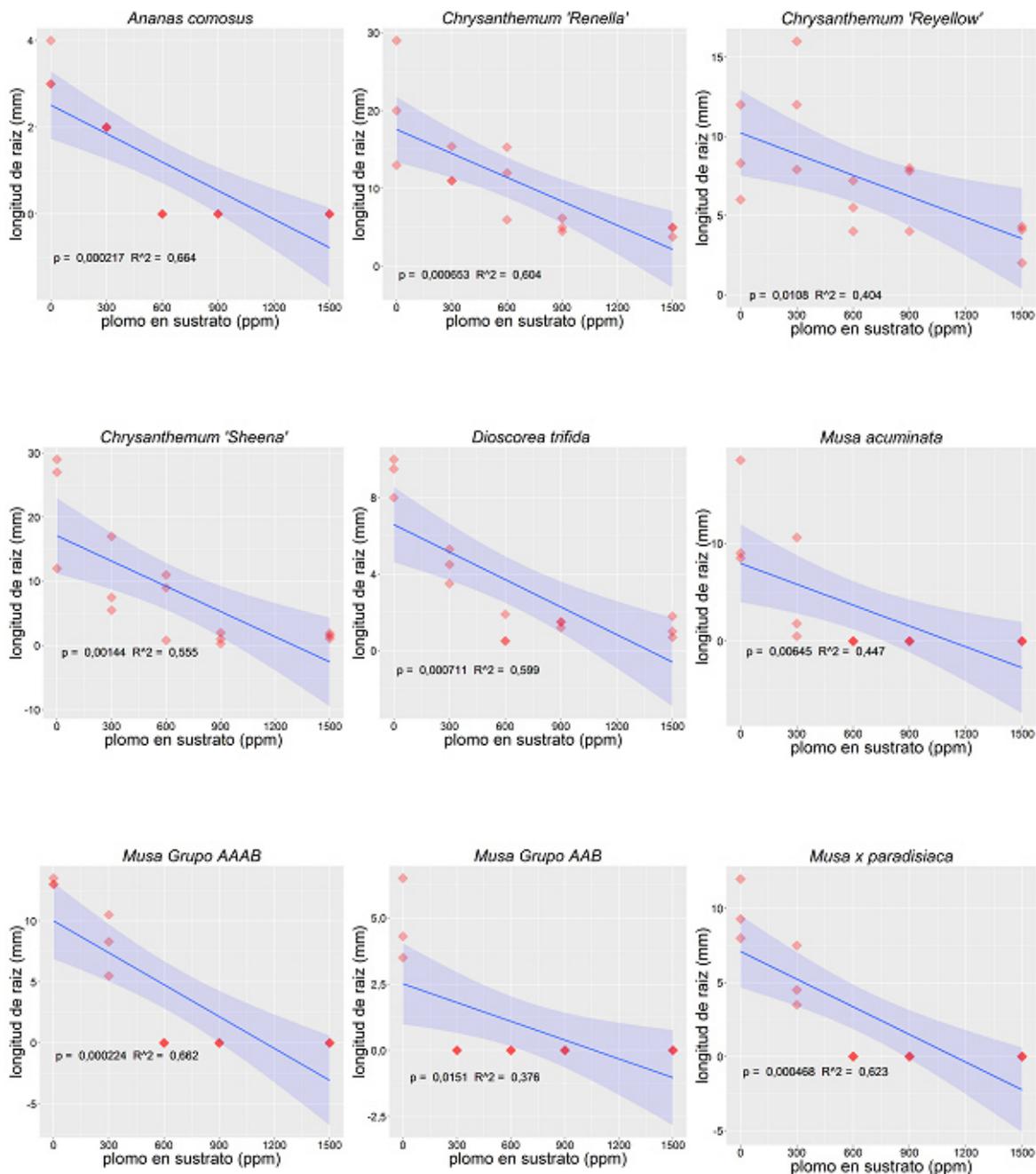


Figura 4.7. Representación gráfica de la longitud radicular media (expresada en mm) alcanzada por los taxones considerados en cada uno de los tratamientos de Pb (expresados en ppm) tras 12 semanas de cultivo *in vitro*. La línea azul representa la recta de regresión lineal con el intervalo de confianza (95%) marcado por la zona de color azul oscuro. El valor de *p* indica la probabilidad de que la concentración de Pb no tenga ningún efecto significativo sobre la longitud de las raíces.

En cualquier caso, se sabe que existen evidencias del transporte de Pb por parte de las raíces de algunas plantas estudiadas (Wierzbicka y Obidzinska, 1998) en forma de iones libres o acomplexados con un ácido orgánico siguiendo la corriente de transpiración (Römken *et al.*, 2002). También es conocido que el Pb^{2+} puede unirse a diferentes moléculas con cargas negativas, como el ácido galacturónico de la pared celular (Romkens *et al.*, 2002), e incluso se considera como posible la unión de este metal a péptidos de bajo peso molecular como son las fitoquelatinas (Vyslouzilova *et al.*, 2003), a pesar de que el Pb no es uno de los metales con mayor afinidad por estas moléculas. Otro hecho relevante es que el glutatión, que es un precursor de dichas fitoquelatinas, también presenta afinidad por el Pb y podría, además, formar parte de un complejo de transporte que apareciera en los exudados de xilema en las plantas expuestas al Pb (Yang *et al.*, 2000). Hasta el momento se ha citado la producción de algunas especies químicas como respuesta a la exposición a metales pesados, y también se ha demostrado la síntesis de oxalato a partir de la oxidación de glicolato a glioxilato y luego oxidación de glioxilato a oxalato en las raíces de arroz, de tal forma que las variedades tolerantes han resultado ser capaces de autorregular la síntesis y secreción de oxalato, un componente que precipita Pb y así, reduce su absorción por la raíz (Yang *et al.*, 2000).

Por tanto, a modo de resumen, se puede decir que en la experiencia que se ha llevado a cabo, la reducción de la longitud radicular tuvo lugar en los diferentes tratamientos de todos los taxones estudiados. Así, la sola presencia del Pb, aún en la menor de sus concentraciones (300 ppm) ha tenido un efecto negativo en el crecimiento de las raíces de las plantas estudiadas. Este efecto ha resultado ser más drástico en los géneros *Ananas* y *Musa*, y menos llamativo en el género *Chrysanthemum*.

4.3.3. CONCENTRACIÓN DE PLOMO EN LOS TEJIDOS VEGETALES. FACTOR DE BIOACUMULACIÓN

En relación a los niveles de concentración media de Pb en los tejidos vegetales (mostrados en la Tabla 4.5 y la Figura 4.8), se observa que para la mayoría de las plantas consideradas, los niveles de bioacumulación en sus tejidos presentó un incremento creciente con la mayor concentración de Pb en el sustrato. Por tanto, con carácter general, el aumento en la concentración de Pb en el sustrato ha tenido un efecto positivo en la bioacumulación de Pb por parte del conjunto de los taxones considerados, con valores

medios de 3447,22, 13141,33, 20011,39 y 23613,36 ppm, en los tratamientos de 300, 600, 900 y 1500 ppm, respectivamente. A este respecto, cabe indicar que aunque se ha sugerido que altas concentraciones de Pb pueden provocar alteraciones en las membranas celulares que reducen la barrera suelo/planta y aumentan la absorción de Pb (Yang *et al.*, 2000), la tendencia observada en los tratamientos indica que la absorción y la translocación de Pb hacia la parte aérea responden de manera proporcional al incremento de Pb en el medio, al menos bajo las condiciones controladas de un ensayo *in vitro* como el aquí desarrollado.

No obstante, no todos los taxones siguieron este comportamiento, y así, *Chrysanthemum* 'Reyellow' mostró valores muy similares entre los tratamientos de 900 y 1500 ppm, mientras que por otro lado *Chrysanthemum* 'Sheena' y *Musa* Grupo AAB, mostraron su máxima acumulación en el tratamiento con 900 ppm, experimentando a partir de ahí una clara disminución de sus niveles de concentración en los tejidos.

Experiencias previas han puesto de manifiesto que las cantidades de Pb acumuladas por las plantas se han visto influenciadas por la concentración del medio en el que crecen (Chen *et al.*, 2015), de tal forma que conforme la concentración de Pb era mayor, más elevada era también la cantidad de Pb acumulado por las diferentes especies. En este sentido, el proceso de acumulación de Pb en las plantas se adapta perfectamente a los cambios en la concentración de Pb del sustrato (Chen *et al.*, 2015). Por otro lado, y corroborando lo ocurrido para *Chrysanthemum* 'Reyellow', *Chrysanthemum* 'Sheena' y *Musa* Grupo AAB, los mismos autores han citado el fenómeno de que aunque la concentración de Pb en el medio ha tenido un mayor efecto sobre la acumulación de Pb en la planta, también se ha podido comprobar que la concentración de Pb en algunas plantas se ha visto reducida tras alcanzar un máximo, de tal forma que la disminución de los niveles de Pb en las plantas se hizo más patente a concentraciones más elevadas en el sustrato. Al desarrollarse las plantas en sustratos afectados por elementos traza tóxicos, como el Pb, las mismas pueden verse afectadas por estos elementos en mayor o menor medida (Sridhara Chary *et al.*, 2009; Zhuang *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2010; Minkina *et al.*, 2012; Khillare *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2014). Las plantas sometidas a estudio han mostrado, para las mayores concentraciones de Pb en el sustrato (900 y 1500 ppm), síntomas visibles de intoxicación.

Tabla 4.5. Concentración media de Pb en los tejidos de las plantas (ppm ± desviación estándar) para cada taxón estudiado y tratamiento con diferentes concentraciones de Pb en el sustrato, así como los valores medios de concentración para todos los tratamientos y para todos los taxones. En las columnas de 300 a 1500 ppm en el sustrato se indica además el valor *p* (obtenido mediante la prueba de Conover con la corrección de Holm) como la probabilidad de que la cantidad de Pb en los tejidos crecidos bajo diferentes tratamientos sea igual a la del tratamiento control (0 ppm). Los valores de *p* significativos ($p < 0,05$) se han marcado en negrita.

| Taxón / Tratamiento | 0 ppm | 300 ppm | 600 ppm | 900 ppm | 1500 ppm | Valores medios todos los tratamientos |
|---|-------------------|---|--|--|---|---------------------------------------|
| <i>Ananas comosus</i> | 21,79± 13,64 | 2491,98± 322,91 <i>p</i> = 1,00 | 9621,77± 1935,26 <i>p</i> = 0,388 | 22477,93± 6613,56 <i>p</i> = 0,0024 | 42699,36± 8645,55 <i>p</i> = 9,6e⁻⁶ | 15462,56 |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Renella' | 0,00± 0,00 | 1431,57± 173,46 <i>p</i> = 0,089 | 1464,91± 440,22 <i>p</i> = 0,101 | 1699,98± 239,18 <i>p</i> = 0,016 | 5029,36± 1031,69 <i>p</i> = 0,0006 | 1925,16 |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Reyellow' | 0,00± 0,00 | 1321,14± 247,25 <i>p</i> = 0,214 | 1178,46± 138,00 <i>p</i> = 0,509 | 3863,58± 2700,26 <i>p</i> = 0,022 | 3224,82± 1895,88 <i>p</i> = 0,038 | 1917,60 |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Sheena' | 22,53± 3,54 | 2289,01± 986,20 <i>p</i> = 0,217 | 2322,66± 1945,12 <i>p</i> = 0,121 | 3884,05± 1388,57 <i>p</i> = 0,012 | 1937,87± 246,73 <i>p</i> = 0,327 | 2091,22 |
| <i>Dioscorea trifida</i> | 20,96± 8,11 | 1175,22± 360,62 <i>p</i> = 0,199 | 2255,78± 254,36 <i>p</i> = 0,0047 | 2232,86± 242,70 <i>p</i> = 0,0056 | 2642,93± 385,72 <i>p</i> = 0,00037 | 1665,55 |
| <i>Musa acuminata</i> | 104,25± 32,07 | 3690,16± 845,93 <i>p</i> = 0,266 | 21906,41± 2828,64 <i>p</i> = 0,013 | 28865,67± 4590,35 <i>p</i> = 0,0011 | 42690,27± 5939,42 <i>p</i> = 0,00054 | 19451,35 |
| <i>Musa ×</i> <i>paradisiiaca</i> | 146,60± 31,83 | 4275,28± 1219,25 <i>p</i> = 0,778 | 22502,61± 4802,13 <i>p</i> = 0,072 | 25767,75± 19504,61 <i>p</i> = 0,072 | 30410,03± 17935,11 <i>p</i> = 0,020 | 16620,45 |
| <i>Musa</i> Grupo AAB | 193,27± 145,48 | 9934,97± 3901,05 <i>p</i> = 1,00 | 27574,66± 2982,60 <i>p</i> = 0,054 | 57941,15± 10199,29 <i>p</i> = 0,00022 | 31768,18± 17987,55 <i>p</i> = 0,026 | 25482,45 |
| <i>Musa</i> Grupo AAAB | 34,37± 32,07 | 4415,70± 845,93 <i>p</i> = 0,065 | 29444,70± 2828,64 <i>p</i> = 0,0012 | 33369,57± 4590,35 <i>p</i> = 0,00048 | 52117,45± 5939,42 <i>p</i> = 1,7e⁻⁵ | 23876,36 |
| Valores medios todos los taxones | 60,42 | 3447,22 | 13141,33 | 20011,39 | 23613,36 | |

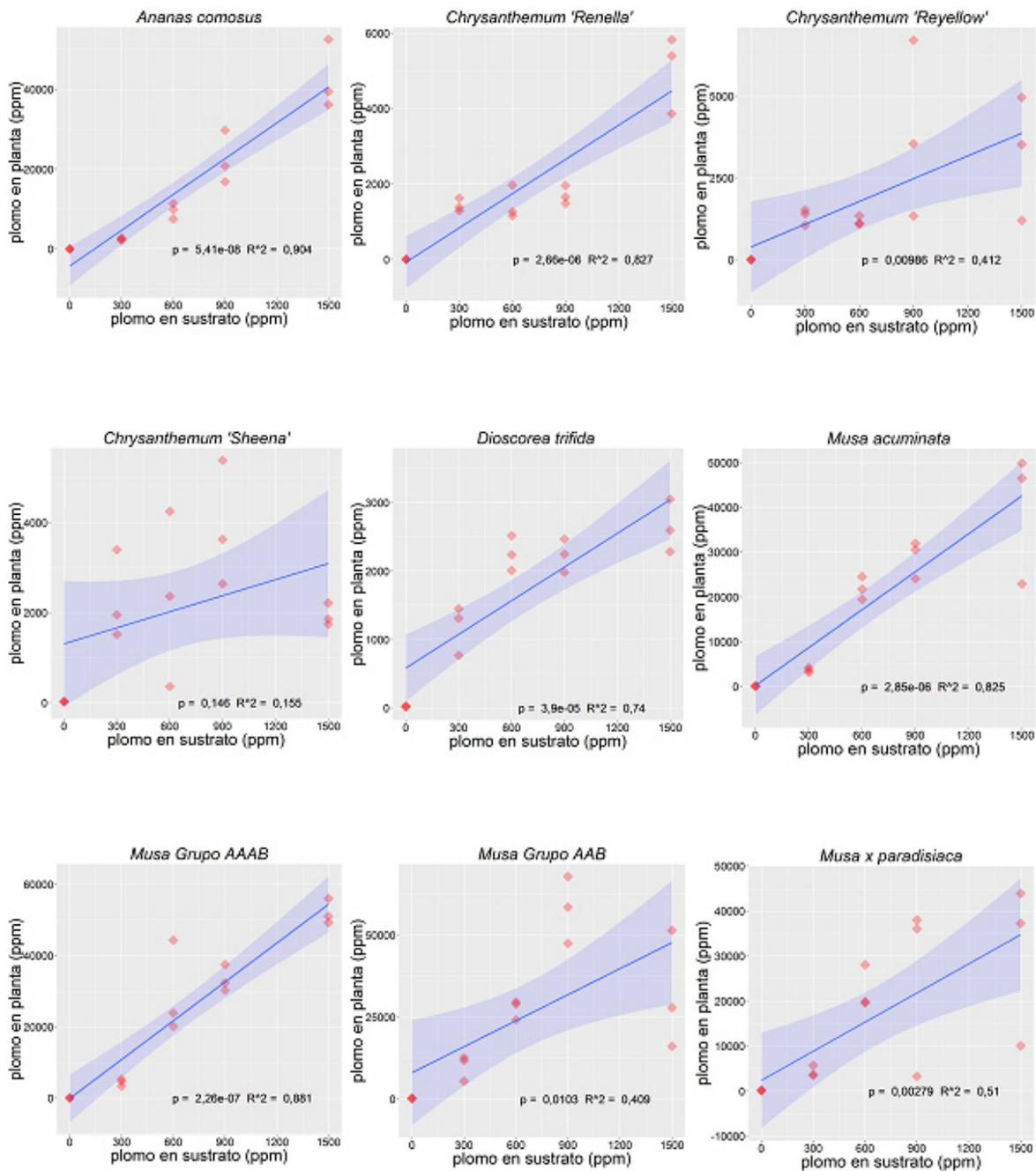


Figura 4.8. Representación gráfica de la concentración media de Pb (expresada en ppm) en los tejidos de los taxones estudiados en cada uno de los diferentes tratamientos con Pb (expresados en ppm). La línea azul representa la recta de regresión lineal con el intervalo de confianza (95%) marcado por la zona de color azul oscuro. El valor de p indica la probabilidad de que la concentración de Pb en el sustrato no tenga ningún efecto significativo sobre la concentración de Pb en las plantas.

La concentración total de Pb en las plantas estudiadas ha sido muy elevada, con valores medios que oscilaron entre las 1175,22 (*Dioscorea trifida*, 300 ppm) y las 57941,15 ppm (*Musa* Grupo AAB, 900 ppm). Respecto de los taxones que presentaron mayores valores medios de acumulación de Pb, han destacado *Musa* Grupo AAB y *Musa* Grupo AAAB, con valores medios de 25482,45 y 23876,36 ppm, respectivamente, para el conjunto de tratamientos. Los restantes taxones del género *Musa* presentaron valores medios de 16620,45 y 19451,35 ppm para *Musa* × *paradisziaca* y *Musa acuminata*, respectivamente. En el polo opuesto se encontraron las cultivariedades del género *Chrysanthemum*, con valores medios en todos los casos próximos a las 2000 ppm (*Chrysanthemum* ‘Sheena’ 2091,22 ppm, *Chrysanthemum* ‘Renella’ 1925,16 ppm y *Chrysanthemum* ‘Reyellow’ 1917,60 ppm). No obstante, la especie con una menor concentración de Pb ha sido *Dioscorea trifida*, al estar por debajo de 2000 ppm (1665,55 ppm). Por su parte, *Ananas comosus* ha mostrado también una buena tasa de acumulación de Pb, al presentar un valor medio de 15462,56 ppm. El hecho de que la prueba de Conover en muchos taxones no resultase significativa a concentraciones de Pb de 300 ppm e incluso 600 ppm se ha podido deber, probablemente, a que se ha medido un número bajo de muestras (tres por cada tratamiento y taxón), que además mostraron una desviación estándar elevada. Asimismo, hay que tener en cuenta que se usó la corrección de Holm para corregir los efectos de comparaciones múltiples. En este caso, los valores de *p* han sido mucho más bajos que, por ejemplo, en una comparación de dos grupos mediante, por ejemplo una prueba *t* de Student.

El contenido en Pb de los tejidos de todos los taxones estudiados y en todos los tratamientos, fue mayor que el valor umbral utilizado para considerar plantas hiperacumuladoras (es decir, 1.000 ppm) (Baker y Brooks, 1989). En consecuencia, todas las plantas resultaron ser tanto o más eficientes que otras citadas como acumuladores de Pb (Bech *et al.*, 2002; Salas Salmerón, 2007; García-Salgado *et al.*, 2012). Por otro lado, en la medida en la que el Pb es un elemento objeto de gran interés desde el punto de vista de sus efectos contaminantes, las capacidades bioacumuladoras mostradas por los géneros *Musa* y *Ananas*, especialmente, podrían resultar de gran interés desde el punto de vista de la fitorremediación de suelos contaminados.

El proceso de bioacumulación se produce en dos etapas; primero tiene lugar la biosorción en la superficie de una célula, que puede alcanzar rápidamente el equilibrio, y secundariamente los procesos metabólicos, que pueden transportar el metal biosorbido dentro de la célula (Chojnacka, 2010). Durante el proceso de biosorción, cationes de

metales compiten con los protones para los sitios de unión disponibles en las superficies celulares, y la liberación de un metal durante este proceso pueden ser causado por la protonación de los sitios de unión; en etapas posteriores, sin embargo, la inhibición de los procesos metabólicos relacionados debido a la toxicidad de los metales, podría ser responsable de la liberación de estos elementos al medio; por otra parte, la muerte de la célula también puede causar la liberación de metales acumulados, lo que podría explicar el comportamiento acumulador observado en algunas especies (Chojnacka, 2010).

En otro sentido, la liberación de metales de las plantas al medio podría ser considerada como un obstáculo para la fitorremediación, no obstante, también podría ser útil para el reciclado de metales, así como para la recuperación de los acumuladores (plantas). Por lo tanto, el mecanismo específico que participa del proceso de liberación de los metales al medio, debería estudiarse más a fondo con la finalidad de ayudar al avance de la aplicación estas técnicas de fitorremediación (Chen *et al.*, 2015).

A la vista de estos resultados, y considerando del interés de los taxones estudiados dentro del campo de la fitorremediación, parece claro que su mayor utilidad se podría encontrar dentro del campo de la fitoextracción, que requiere de especies que sean tolerantes a los sustratos contaminados y que a la vez acumulen cantidades altas de elementos traza, características éstas que parecen cumplir estos taxones para el elemento considerado.

Los estudios llevados a cabo con las plantas estudiadas en este capítulo, además de evaluar la cantidad de Pb acumulado por los diferentes taxones, abordaron también el análisis de sus tasas de bioacumulación de Pb.

Uno de los indicadores de la potencialidad para labores de fitoextracción de las plantas se puede estimar mediante el cálculo del Factor de Bioacumulación (FB). Tal como se describió en el capítulo 3 de la presente memoria, apartado 3.3.3, cuando una especie vegetal presenta un valor FB superior a la unidad ($FB > 1,0$), se considera, con carácter general, como que podría tener potencialidad para las labores de fitoextracción (Pilon-Smits, 2005; Wei *et al.*, 2008), mientras que si $FB < 1,0$ y además resultan ser tolerantes a los sustratos contaminados, su vocación sería mayormente para labores de fitoestabilización. Los diferentes taxones considerados han mostrado diferentes grados de reconcentración del Pb a partir del sustrato (Tabla 4.6, Figura 4.9), si bien en todos los casos son claramente $> 1,0$.

Tabla 4.6. Factor de Bioacumulación medio (FB) de las plantas sometidas a distintos tratamientos de Pb, así como los valores medios de concentración para todos los tratamientos y para todos los taxones.

| Taxón / Tratamiento | 300 ppm | 600 ppm | 900 ppm | 1500 ppm | Valores medios todos los tratamientos |
|---|----------------|----------------|----------------|-----------------|--|
| <i>Ananas comosus</i> | 8,31 | 16,04 | 24,98 | 28,47 | 19,45 |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Renella' | 4,77 | 2,39 | 1,89 | 3,35 | 3,10 |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Reyellow' | 4,40 | 1,96 | 4,29 | 2,15 | 3,20 |
| <i>Chrysanthemum</i> 'Sheena' | 7,63 | 3,87 | 4,32 | 1,29 | 4,27 |
| <i>Dioscorea trifida</i> | 3,92 | 3,76 | 2,48 | 1,76 | 2,98 |
| <i>Musa acuminata</i> | 12,30 | 36,51 | 32,07 | 28,46 | 27,34 |
| <i>Musa</i> × <i>paradisiaca</i> | 14,25 | 37,50 | 28,63 | 20,27 | 25,16 |
| <i>Musa</i> Grupo AAB | 33,12 | 45,96 | 64,38 | 21,18 | 41,16 |
| <i>Musa</i> Grupo AAAB | 14,72 | 49,08 | 37,08 | 34,75 | 33,91 |
| Valores medios todos los taxones | 11,4 | 21,89 | 22,23 | 15,74 | |

Respecto de los FB de las diferentes plantas estudiadas, destaca el género *Musa*, con sus cuatro taxones mostrando un valor promedio del FB por encima de 25, y con valores específicos medios de 41,16, 33,91, 27,34 y 25,16 para *Musa* Grupo AAB, *Musa* Grupo AAAB, *Musa acuminata* y *Musa* × *paradisiaca*, respectivamente. Muy cerca del género *Musa*, encontramos a *Ananas comosus*, con un valor de FB promediado de 19,45. Por otro lado, y a gran distancia, encontramos el resto de taxones con valores de FB mucho más bajos, pero aun así claramente > 1,0, tal y como son *Chrysanthemum* 'Sheena' (4,27), *Chrysanthemum* 'Reyellow' (3,20), *Chrysanthemum* 'Renella' (3,10) y, finalmente, *Dioscorea trifida* (2,98).

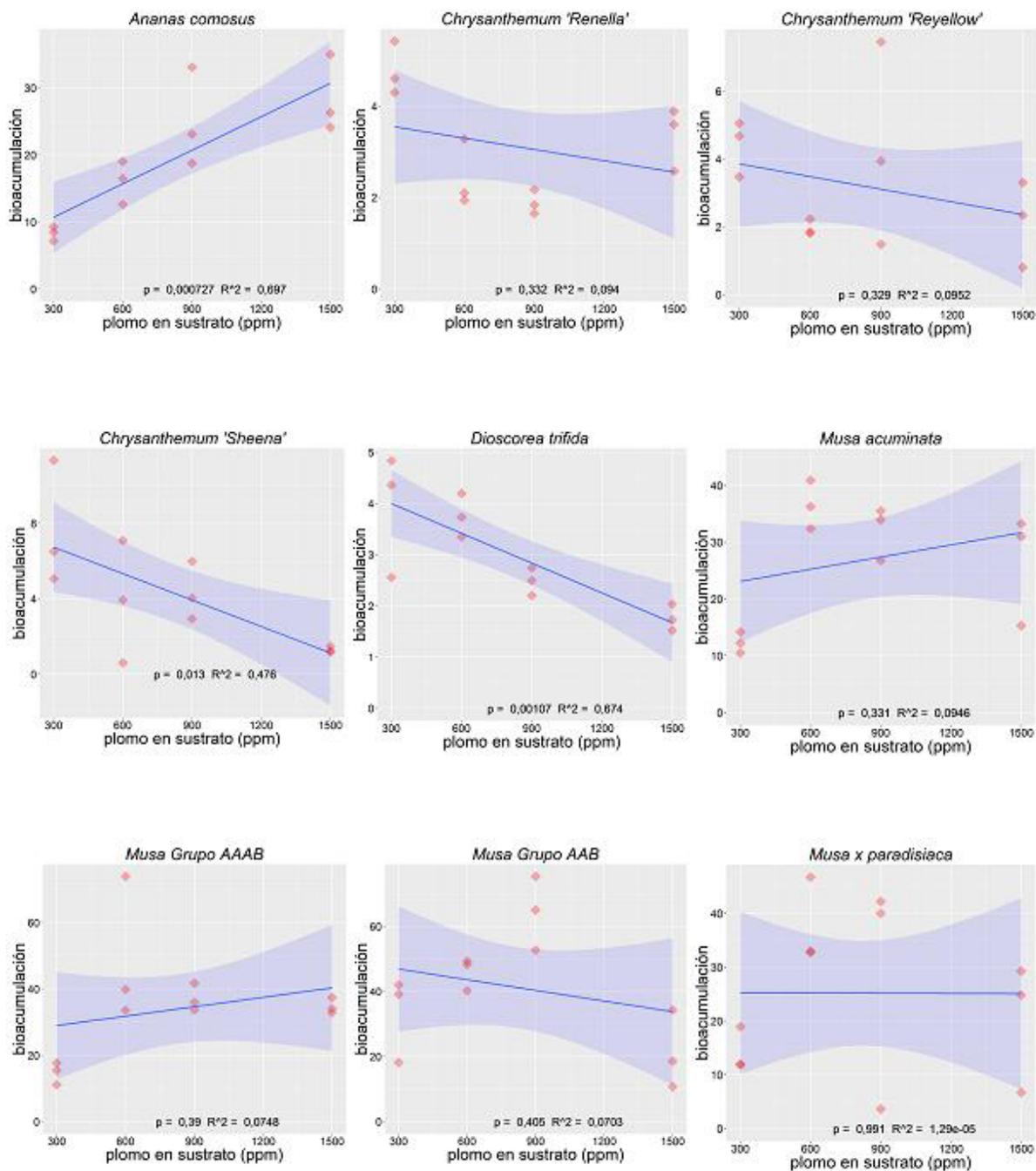


Figura 4.9. Factor de Bioacumulación medio (FB) de los taxones considerados para el estudio bajo los diferentes tratamientos de Pb. La línea azul representa la recta de regresión lineal con el intervalo de confianza (95%) marcado por la zona de color azul oscuro. El valor de p indica la probabilidad de que concentración de Pb en el sustrato no tenga ningún efecto significativo sobre el Factor de Bioacumulación.

En el Figura 4.9 se ha ilustrado cómo depende el FB de la concentración de Pb en el sustrato. Los tres únicos taxones en los que los valores han demostrado una correlación significativa entre el FB y los valores de Pb en el sustrato han sido *Ananas comosus*, *Chrysanthemum* 'Sheena' y *Dioscorea trifida*. Curiosamente, en *Ananas comosus* esta correlación ha sido positiva, lo cual quiere decir que el aumento de Pb en los tejidos han crecido más rápidamente que el Pb en el sustrato.

4.3.4. INTERÉS DE LOS TAXONES ESTUDIADOS DENTRO DEL CAMPO DE LA FITORREMEDIACIÓN

A la hora de buscar especies aptas para un programa de fitorremediación se ha de tener en cuenta, en primer lugar, que deben ser tolerantes, y además con buena producción de biomasa (para el caso de la fitoextracción) o con buenos sistemas radicales (para el caso de la fitoestabilización y la fitoextracción), y con unos niveles de acumulación importantes, con $FB > 1,0$ para el caso de la fitoextracción y todo lo contrario para el caso de la fitoestabilización (García y Angeler, 2001).

Considerando la concentración media de Pb acumulado por los nueve taxones estudiados, en los diferentes tratamientos con Pb y sus valores respectivos del FB, deducimos que se trata claramente de taxones que en su conjunto son hiperacumuladores de Pb, con un incremento absoluto de la concentración de este elemento en los tejidos conforme aumenta la concentración del sustrato, excepto para *Chrysanthemum* 'Reyellow', *Chrysanthemum* 'Sheena' y *Musa* Grupo AAB, que experimentaron su máxima acumulación en el tratamiento con 900 ppm, sufriendo a partir de ahí una disminución, más o menos evidente, de sus niveles de Pb. No obstante, las rectas de regresión mostraron en todos los casos una pendiente positiva, con la única excepción del caso de *Chrysanthemum* 'Sheena' que no mostró una regresión significativa. Estamos hablando, por tanto, de taxones que, al menos desde el punto de vista fisiológico, muestran una alta tolerancia incluso a niveles de contaminación por Pb medios y altos.

No obstante, al estudiar cada taxón por separado, se ha podido comprobar la existencia de ciertos comportamientos diferenciales entre ellos, y como se ha mencionado en el apartado 4.3.2, los taxones del género *Musa* han sido de los que más Pb han acumulado, seguidos de *Ananas comosus*. Otros autores han puesto de manifiesto la alta

potencialidad como hiperacumulador de Pb de la especie *Musa × paradisiaca* (= *Musa sapientum*) (Bansah y Addo, 2016).

Por tanto, se puede concluir que los cuatro taxones del género *Musa*, junto con *Ananas comosus*, presentan una muy alta potencialidad dentro del campo de la fitoextracción de Pb de suelos contaminados, seguidos a una buena distancia por los tres taxones del género *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum* 'Sheena', *Chrysanthemum* 'Reyellow' y *Chrysanthemum* 'Renella', por este orden), y por la especie *Dioscorea trifida*. Habría que evaluar ahora, la tolerancia y grado de producción de biomasa para hacer una evaluación más completa de esta aptitud dentro del campo de la fitorremediación.

Por tanto, a la luz de estos resultados podemos concluir que todos los taxones presentan una alta potencialidad dentro del campo de la fitoextracción, En sentido contrario, ninguno de los taxones considerados en esta experiencia presenta características compatibles con otras actividades dentro de la fitorremediación, como puede ser la fitoestabilización.

En relación a la tolerancia frente a la presencia de Pb, ésta se puede evaluar en función del grado de afección del crecimiento radicular y de la producción de biomasa.

A este respecto, hay que indicar que el género más tolerante, es decir, con menor grado de reducción del crecimiento radicular frente a las concentraciones crecientes de Pb en el sustrato, ha sido el género *Chrysanthemum*, y en particular los taxones *Chrysanthemum* 'Reyellow' y *Chrysanthemum* 'Renella'. En la situación contraria se encuentran los cuatro taxones del género *Musa* y la especie *Ananas comosus*, con unos bajos niveles de tolerancia a la presencia de Pb en el sustrato.

Por su parte, en relación a la biomasa total de los taxones estudiados como medida del crecimiento de la planta y su respuesta frente al estrés producido por el Pb en el medio, hay que indicar que la presencia de Pb en el medio acaba por disminuir la biomasa de forma significativa en la mayor parte de los tratamientos, en algún caso concreto a partir de 300 ppm de Pb, si bien en la mayoría de los taxones considerados esta reducción se hizo notable a partir de la adición de 600 y 900 ppm de Pb al sustrato, lo que resulta coherente con estudios previos (Mishra *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2015). Así, el aumento en la concentración de Pb en el sustrato ha tenido un efecto negativo en el crecimiento de la mayoría de los taxones, medido este efecto a través de la disminución del peso seco total, como se ha constatado para los taxones *Ananas comosus*, *Chrysanthemum* 'Reyellow',

Chrysanthemum 'Sheena', *Musa acuminata*, *Musa* Grupo AAAB y *Musa* Grupo AAB. Caso contrario ha sido el de los taxones *Chrysanthemum* 'Renella', *Dioscorea trifida* y *Musa* × *paradisiaca*, que no presentaron efectos significativos en su producción de biomasa, lo que parece evidenciar una elevada tolerancia de estos tres taxones a la acción del Pb.

A la luz de todos estos resultados se podría hablar de grandes potencialidades para la cultivariedad *Chrysanthemum* 'Renella', al presentar una buena bioacumulación de Pb, si bien es verdad que muy baja en comparación con la mayoría de taxones considerados, combinado con una escasa afección del Pb del sustrato sobre su producción de biomasa y con un moderado efecto negativo sobre su elongación radical. No obstante, cualquiera de los taxones considerados presenta potencialidades suficientes como para ser considerados en labores de fitoextracción, sobre todo en ambientes con niveles moderados o bajos de contaminación por Pb, como ocurre para la mayoría de los taxones utilizados en estas tareas (García y Angeler, 2001).

En relación al género *Chrysanthemum*, cabe indicar que ha mostrado en diversos estudios (Abdullah y Sarem, 2010) una buena capacidad para acumular Pb, siendo muy útil a la hora de reducir sus niveles tóxicos en los suelos tras varios meses de cultivo, si bien su mayor acumulación se ha producido en los tejidos radiculares, mientras que las partes aéreas y, sobre todo, las flores, solían presentar niveles mínimos de este elemento tóxico (Abdullah y Sarem, 2010). Por su parte, en el caso concreto de *Chrysanthemum indicum* L., cuando ha sido sometido a concentraciones crecientes de Pb en el sustrato, se ha podido observar que a partir de una concentración de 50 ppm de Pb en el suelo, la planta mostró una importante reducción del tamaño, así como de la longitud radicular y la biomasa foliar y radicular (Mani *et al.*, 2015); por otro lado, este metal se acumuló de forma mayoritaria en las raíces, mientras que sus valores en las partes aéreas, y sobre todo en las flores, resultaron ser escasos. Este último dato nos indica que quizás este género podría ser utilizado en labores de fitorremediación que hiciesen compatible la labor restauradora con la producción comercial de flor cortada.

Este último comentario nos da pie a señalar que hoy día se tienen en cuenta otros aspectos adicionales al proceso de bioacumulación en sí mismo a la hora de implementar un programa de fitorremediación. Así, la evolución experimentada por las tecnologías de fitorremediación, al introducir el concepto de las fitotecnologías, incluye también la variable del valor añadido al proceso de la fitorremediación, de tal forma que a través de

un adecuado fitomanejo de las plantas seleccionadas, se consigue compatibilizar la restauración ambiental con un uso de la tierra contaminada compatible con generación de bienes y servicios de interés económico (LeDuc y Terry, 2005). Desde este punto de vista, y con la finalidad de buscar la generación de un valor añadido del proceso fitorremediador mediante la producción de bienes de interés económico de forma simultánea a la labor restauradora, algunas de las opciones aquí planteadas podrían cobrar un interés adicional.

Así, si bien la piña (*Ananas comosus*) ha presentado una cierta intolerancia a las concentraciones crecientes de Pb en el sustrato, expresada en forma de disminución del crecimiento radicular, sus altos niveles de bioacumulación del Pb, así como su buena producción de biomasa, incluso en concentraciones medias de Pb en el sustrato, hacen que esta especie resulte igualmente de interés para los procesos de fitoextracción. En ese sentido, autores varios (Ang *et al.*, 2010; Promnim, 2012) proponen a esta especie para ser cultivada comercialmente en suelos contaminados, p. ej. por Pb, As, Hg y Cd, al ser una especie relativamente resistente a esta contaminación, además de ayudar a reducir los niveles totales y extractables de elementos contaminantes en el suelo tras varios cultivos. En lo que se refiere al consumo humano, es importante apuntar que Ang *et al.* (2010) encontraron en los frutos concentraciones insignificantes de los metales pesados objeto de su estudio, así que el cultivo de esta planta y la posterior comercialización no parece suponer ningún peligro para la población humana. Esto significa que el cultivo de la piña podría ser interesante con fines productivos comerciales en emplazamientos contaminados por elementos traza tóxicos, que para la mayoría de los organismos serían altamente tóxicos.

A su vez, los taxones del género *Musa*, que han presentado los más altos niveles de bioacumulación de todos los taxones estudiados, han presentado una alta intolerancia a nivel radicular, e incluso una baja producción de biomasa en sustratos con concentraciones moderadas o medias de Pb. A este respecto, cabe indicar que en otros estudios, se ha puesto de manifiesto que *Musa × paradisiaca* ha mostrado una alta capacidad de acumulación potencial de elementos traza (Bansah y Addo, 2016), razón por la cual esta especie no parece recomendable para su cultivo en suelos contaminados por elementos tóxicos hasta que estos sustratos muestren unos niveles aceptables de estos contaminantes. Por su parte, la especie *Musa acuminata* no ha mostrado unos altos niveles de acumulación de otros elementos como el As en sus tejidos (Visoottiviseth *et al.*, 2002), mientras que en nuestro estudio ha acumulado concentraciones elevadas de Pb.

Por su parte, en relación a *Dioscorea trifida*, se puede indicar que aún tratándose de la especie con una menor tasa de bioacumulación de Pb en sus tejidos, su FB ha sido, en cualquier caso, muy importante. Si a esto le unimos una moderada afección de su producción de biomasa como consecuencia de la presencia creciente de Pb en el sustrato, podríamos estar pensando en una especie de cierto interés en el campo de la fitoextracción, aún a pesar de la importante afección que su sistema vegetativo subterráneo ha mostrado ante este contaminante edáfico. Estudios previos (Mkumbo *et al.*, 2012) han puesto de manifiesto que *Dioscorea* sp. ha mostrado un gran potencial para la fitoestabilización de suelos afectados por Cu, al no acumular grandes cantidades de este metal y sin embargo ser tolerante a su contaminación, si bien no se evaluó en ese caso el efecto del Pb. Otros estudios (Oti Wilberforce y Nwabue, 2013) han puesto de manifiesto en relación a otro taxón de este género (*Dioscorea cayennensis* subsp. *rotundata* (Poir.) J. Miège = *Dioscorea rotundata* Poir.), la presencia de una afección diferencial en función del elemento traza de que se tratase, de tal forma que mostró unas tasas de afección decreciente Pb > Zn > Cu > Mn > Cd > Ni > As > Cr. En concreto, As y Cd no parecen afectar a esta especie, mientras que para el resto de elementos, esta contaminación ha sido superior en las partes subterráneas que en las partes aéreas, siendo especialmente notorio en el caso del Pb (Oti Wilberforce y Nwabue, 2013), lo que haría inviable su aprovechamiento alimenticio.

Por lo tanto, a la luz de estos resultados, se han generado una serie de propuestas de posibles taxones de aplicación en la zona de Haina, con vistas tanto a la restauración ambiental como a la generación de un valor económico añadido, siempre y cuando este proceso se haga con los suficientes controles científicos y técnicos que eviten episodios de contaminación de la población o la cadena trófica.

4.4. CONCLUSIONES

Los requerimientos específicos de las técnicas de fitorremediación segregan las especies tolerantes a la contaminación metálica en dos grandes grupos de interés: las aptas para su utilización en tareas de fitoextracción (con altos niveles de acumulación metálica en sus tejidos aéreos) y las aptas para labores de fitoestabilización (con bajos niveles de acumulación metálica en sus tejidos aéreos). En cualquier caso, la evolución experimentada por las tecnologías fitorremediadoras nos lleva hacia un nuevo concepto, el de las fitotecnologías, que a través de un adecuado fitomanejo de las plantas seleccionadas

consigue compatibilizar la restauración ambiental con un uso de la tierra contaminada, compaginable con la producción de bienes y servicios de interés económico.

En este contexto, se han evaluado los potenciales frente a la contaminación por Pb de varios taxones vegetales de interés comercial en la zona de Haina, con la finalidad de buscar la generación de un valor añadido del proceso fitorremediador.

La biomasa total de las plantas estudiadas se ha examinado como una medida del crecimiento de la planta y su respuesta frente al estrés producido por el Pb en el medio. Los resultados obtenidos han indicado que la presencia de Pb en el medio acaba por disminuir la biomasa de forma significativa en la mayor parte de los tratamientos, en algún caso concreto a partir de 300 ppm de Pb en el medio, si bien en la mayoría de los taxones considerados esta reducción se hizo notable a partir de la adición de 600 y 900 ppm, lo que resulta coherente con estudios previos. Los taxones que mostraron una mayor reducción de su crecimiento frente a concentraciones crecientes de Pb en el sustrato fueron *Chrysanthemum* 'Sheena', *Chrysanthemum* 'Reyellow', *Ananas comosus*, *Musa* Grupo AAAB, *M. acuminata* y *Musa* Grupo AAB. Caso contrario es el de los taxones *Chrysanthemum* 'Renella', *Dioscorea trifida* y *Musa* × *paradisiaca*, que no presentaron efectos significativos en su producción de biomasa, lo que parece evidenciar una elevada tolerancia de estos tres taxones a la acción del Pb.

En cuanto a la valoración del crecimiento radicular como medida para valorar también el grado de tolerancia de los diferentes taxones frente a la contaminación por Pb, el grupo de taxones más tolerante, es decir, con menor grado de reducción del crecimiento radicular frente a las concentraciones crecientes de Pb en el sustrato, fue el del género *Chrysanthemum*, y en particular *Chrysanthemum* 'Reyellow' y *Chrysanthemum* 'Renella'. En la situación contraria se encontraron los cuatro taxones del género *Musa* y la especie *Ananas comosus*, con unos bajos niveles de tolerancia a la presencia de Pb en el sustrato.

También se ha podido constatar que las plantas sometidas a las mayores concentraciones de Pb (900 y 1500 ppm) presentaron muchas bajas, o con caídas de hojas y decaimiento general. Estos resultados mostraron, igualmente, que sólo en el tratamiento de 300 ppm, la mayor parte de los taxones estudiados fueron capaces de mantener un buen crecimiento durante todo el experimento, con crecimientos esencialmente similares al grupo control. Por el contrario, las plantas de los tratamientos 600, 900 y 1500 ppm, según el taxón de que se tratase, demostraron tener dificultades para mantener el crecimiento normal. Esto parece indicarnos, por tanto, la existencia de un fuerte impacto del Pb en el

crecimiento, lo que puede deberse a que la toxicidad inducida por el Pb interfiere con los procesos fisiológicos normales de estos taxones.

En lo que se refiere a los niveles de Pb acumulado en los tejidos vegetales, para la mayoría de los taxones considerados el nivel de bioacumulación en sus tejidos experimentó un incremento frente a una mayor concentración de Pb en el sustrato. Por tanto, con carácter general, el aumento en la concentración de Pb en el sustrato ha tenido un efecto positivo en la bioacumulación de Pb por parte del conjunto de los taxones considerados, observándose la tendencia de que la absorción y la translocación de Pb hacia la parte aérea responden de manera proporcional al incremento de Pb en el medio. La concentración total de Pb en las plantas estudiadas ha sido muy elevada. Entre los taxones que presentaron mayores valores medios de acumulación de Pb han destacado los cuatro taxones del género *Musa* y *Ananas comosus*. En el polo opuesto, la especie con una menor concentración de Pb fue *Dioscorea trifida* y los tres taxones del género *Chrysanthemum*.

Al estar el contenido en Pb de los tejidos de todos los taxones estudiados por encima del valor umbral, de 1.000 ppm, utilizado para considerar a estas como plantas hiperacumuladora, esto les confiere a estos taxones un gran interés desde el punto de vista de las capacidades bioacumuladoras. A su vez, los FB más elevados se observaron también en los cuatro taxones de *Musa*, seguidos de cerca por *Ananas comosus*, mientras que el resto de taxones presentaron valores mucho más bajos, aunque siempre > 1,0.

Por consiguiente, a la luz de estos resultados, podemos concluir que todos los taxones estudiados presentan una alta potencialidad dentro del campo de la fitoextracción, en tanto y en cuanto acumulan cantidades muy elevadas de Pb, así como por presentar unos elevadísimos valores del FB. En sentido contrario, ninguno de los taxones considerados en esta experiencia presenta características compatibles con la fitoestabilización. En el caso concreto de los nueve taxones estudiados, se ha observado que los cuatro del género *Musa* (*Musa* Grupo AAB, *Musa* Grupo AAAB, *Musa acuminata* y *Musa* × *paradisiaca*, por este orden), junto con la especie *Ananas comosus*, han presentado una muy alta potencialidad dentro del campo de la fitoextracción de Pb de suelos contaminados, seguidos a una buena distancia por los tres taxones del género *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum* 'Sheena', *Chrysanthemum* 'Reyellow' y *Chrysanthemum* 'Renella', por este orden), y por la especie *Dioscorea trifida*.

En cuanto a la cultivariedad *Chrysanthemum* 'Renella', al presentar una buena bioacumulación de Pb (aunque muy baja en comparación con la mayoría de taxones

considerados), combinada con una escasa afección del Pb del sustrato sobre su producción de biomasa y con un moderado efecto negativo sobre su elongación radical, sería un taxón a ser tenido en cuenta para labores de fitoextracción.; si bien esto también se podría extender al resto de taxones de *Chrysanthemum* considerados. Además, podría ser utilizada para la producción de flor ornamental en el caso de los taxones de mayor interés comercial.

No obstante, cualquiera de los taxones considerados presenta potencialidades suficientes como para ser considerados en estas labores de descontaminación de suelos. Así, p. ej., el cultivo de *Ananas comosus* podría ser interesante con fines productivos comerciales en emplazamientos contaminados por elementos traza que para la mayoría de los organismos serían altamente tóxicos, siempre y cuando se llevase un estricto control de los niveles de transferencia de los elementos tóxicos al fruto. A su vez, los taxones del género *Musa*, que han presentado los más altos niveles de bioacumulación de todos los taxones estudiados, han presentado una alta intolerancia a nivel radicular, e incluso de producción de biomasa en sustratos con concentraciones moderadas o medias de Pb. Sin embargo estos taxones de musáceas no parecen recomendables para su cultivo en suelos contaminados por elementos tóxicos hasta que estos sustratos muestren unos niveles aceptables de estos contaminantes. Por último, en relación a *Dioscorea trifida*, aún tratándose de la especie con una menor tasa de bioacumulación de Pb en sus tejidos, su FB ha sido, en cualquier caso, muy importante. Si a esto le unimos una moderada afección de su producción de biomasa como consecuencia de la presencia creciente de Pb en el sustrato, podríamos estar pensando en una especie de cierto interés en el campo de la fitoextracción, aún a pesar de la importante afección que sus partes subterráneas han mostrado ante este contaminante edáfico. A este respecto, y dado que la parte comestible de esta planta es un tubérculo, esta gran acumulación de elementos tóxicos en su sistema subterráneo haría inviable su aprovechamiento alimenticio.

Dicho esto, restaría aún por hacer una evaluación realista de la tolerancia y grado de producción de biomasa bajo condiciones reales de campo, para hacer una evaluación más completa de esta aptitud dentro del campo de la fitorremediación.

4.5. BIBLIOGRAFÍA

- Abdullah, S., Sarem, S.M., 2010. The potential of *Chrysanthemum* and *Pelargonium* for phytoextraction of lead-contaminated soils. *International Journal of Civil Engineering*, 4, 409-416.
- Ali, H., Khan, E., Sajad, M.A., 2013. Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere*, 91, 869–881.
- Ang, L.H., Tang, L.K., Ho, W.M., Fui, H.T., Ramli, M., 2010. Bio-Accumulation of Mercury, Lead, Arsenic and Cadmium by Pineapple Grown as an Agroforestry Crop for Ex-Tin Mines in Peninsular Malaysia. *Acta Horticulturae*, 902, 313–318.
- 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, 811–826.
- Baker, A.J.M., McGrath, S.P., Reeves, S.D., Smith, J.A.C., 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biochemical resource for metal phytoremediation of metal polluted soils. En: Terry, N.; Bañuelos, G. (eds.), *Phytoremediation of contaminated soil and water*, pp. 85-107. Lewis Publishers, Boca Ratón.
- Bansah, K.J., Addo, W.K., 2016. Phytoremediation Potential of Plants Grown on Reclaimed Spoil Lands. *Ghana Mining Journal*, 16(1), 68–75.
- Bañuelos, G.S., Ajwa H.A., Mackey B., Wu L., Cook C., Akohoue S., Zambrzuski S., 1997. Selenium-induced growth reduction in *Brassica* landraces considered for phytoremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 36, 282–287.
- 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.
- Belalcázar, S. 1991. *El cultivo del plátano en el trópico*. Ed. Feriva, Cali.
- Brickell, C.D., Alexander, C., David, J.C., Hettterscheid, W.L.A., Leslie, A.C., Malecot, V., Xiaobai Jin, Cubey J.J., 2009. *International Code of Nomenclature for Cultivated Plants (ICNCP)*, Eighth Editio. *Scripta horticulturae* 10, 1–184. Disponible en: www.actahort.org/chronica/pdf/sh_10.pdf. Accedido el 16/03/2017.

- Cai, Y.P., Huang, G.H., Yang, Z.F., Tan, Q., 2009. Identification of optimal strategies for energy management systems planning under multiple uncertainties. *Applied Energy*, 86(4), 480–495.
- Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., Baker, A.J., 1997. Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology*, 8(3), 279–284.
- Chaney, R.L., Angle, J.S., Broadhurst, C.L., Peters, C.A., Tappero, R.V., Sparks, D.L., 2007. Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *Journal of Environmental Quality*, 36, 1429–1443.
- Chen, L., Luo, S., Li, X., Wan, Y., Chen, J., Liu, C., 2014. Interaction of Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake. *Soil Biology and Biochemistry*, 68, 300–308.
- Chen, M., Zhang, L.L., Li, J., He, X.J., Cai, J.C., 2015. Bioaccumulation and tolerance characteristics of a submerged plant (*Ceratophyllum demersum* L.) exposed to toxic metal lead. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 313–321.
- Chojnacka, K., 2010. Biosorption and bioaccumulation - the prospects for practical applications. *Environment International*, 36, 299–307.
- Conover, W.J., Iman, R.L., 1979. On multiple - comparison procedures. Technical report, LA-7677-MS, Los Alamos Scientific Laboratory.
- Dahmani-Muller, H., Oort van, F., Gélie, B., Balabane, M., 2000. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environmental Pollution*, 109(2), 231–238.
- Devesa Alcaraz, J.A., Carrión García, J.S., 2012. Las plantas con flor. Apuntes sobre sus origen, clasificación y diversidad. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba, Córdoba, España.
- Dong, C., Huang, G.H., Cai, Y.P., Liu, Y., 2013. Robust planning of energy management systems with environmental and constraint-conservative considerations under multiple uncertainties. *Energy Conversion and Management*, 65, 471–486.

- 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.
- Doumett, S., Lamperi, L., Checchini, L., Azzarello, E., Mugnai, S., Mancuso, S., Petruzzelli, G., Del Bubba, M., 2008. Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tomentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: Influence of different complexing agents. *Chemosphere*, 72, 1481–1490.
- García, G., Angeler, D.G., 2001. Plantas restauradoras para recuperar ambientes contaminados. *Quercus*, 182, 24–27.
- García, G., Faz, Á., Cunha, M., 2004. Performance of *Piptatherum miliaceum* (Smilo grass) in edaphic Pb and Zn phytoremediation over a short growth period. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54(2), 245–250.
- García-Salgado, S., García-Casillas, D., Quijano-Nieto, M.A., Bonilla-Simón, M.M., 2012. Arsenic and heavy metal uptake and accumulation in native plant species from soils polluted by mining activities. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223, 559–572.
- Gujarathi, N.P., Haney, B.J., Linden, J.C., 2005. Phytoremediation potential of *Myriophyllum aquaticum* and *Pistia stratiotes* to modify antibiotic growth promoters, tetracycline, and oxytetracycline, in aqueous wastewater systems. *International Journal of Phytoremediation*, 7, 99–112.
- He, X.J., Li, J., 2010. Effects of cadmium toxicity on some growth parameters and antioxidant enzymes in *Luffa cylindrica* seedlings. *Fresenius Environmental Bulletin*, 19, 2630–2636.
- Holm, S., 1979. A simple sequentially rejective multiple test procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, 6(2), 65–70.
- Kadereit, J.W., Jeffrey, C., 2007. Flowering Plants. Eudicots: Asterales. En: Kubitzki, K. (ed.), *The families and genera of vascular plants*, vol. 8. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.

- Khillare, P.S., Jyethi, D.S., Sarkar, S., 2013. Health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals via dietary intake of vegetables grown in the vicinity of thermal power plants. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 1642–1652.
- Kubitzki, K., 1998. Flowering Plants. Monocotyledons: Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae). En: Kubitzki, K. (ed.), *The families and genera of vascular plants*, vol. 4. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Kumar, N.P.B.A., Dushenkov, V., Motto, H., Raskin, I., 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environmental Science and Technology*, 29, 1232–1238.
- LeDuc, D.L., Terry, N., 2005. Phytoremediation of toxic trace elements in soil and water. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32(11–12), 514–520.
- León, J. 1978., *Botánica de los cultivos tropicales*. Editorial IICA, San José, Costa Rica.
- Lewandowski, I., Schmidt, U., Londo, M., Faaij, A., 2006. The economic value of the phytoremediation function – Assessed by the example of cadmium remediation by willow (*Salix ssp*). *Agricultural Systems*, 89(1), 68–89.
- Li, M.S., Luo, Y.P., Su, Z.Y., 2007. Heavy metal concentrations in soils and plant accumulation in a restored manganese mineland in Guangxi, South China. *Environmental Pollution*, 147, 168–175.
- Licht, L.A., Isebrands, J.G., 2005. Linking phytoremediated pollutant removal to biomass economic opportunities. *Biomass and Bioenergy*, 28(2), 203–218.
- Ma, J.F., Nomoto, K., 1996. Effective regulation of iron acquisition in graminaceous plants – the role of mugineic acids as phytosiderophores. *Physiologia Plantarum*, 97, 609–617.
- Mani, D., Kumar, C., Patel, N.K., Sivakumar, D., 2015. Enhanced clean-up of lead-contaminated alluvial soil through *Chrysanthemum indicum* L. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(4), 1211–1222.
- Martin, F.W., Degras, L. 1978. Tropical Yams and Their Potential. Part 5. *Dioscorea trifida*. *Agriculture Handbook 522*. United States Department of Agriculture, Washington, DC, USA.

- Minkina, T.M., Motuzova, G.V., Mandzhieva, S.S., Nazarenko, O.G., 2012. Ecological resistance of the soil–plant system to contamination by heavy metals. *Journal of Geochemical Exploration*, 123, 33–40.
- Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R.D., Kumar, R., Seth, C.S., Gupta, D.K., 2006. Lead detoxification by coontail (*Ceratophyllum demersum* L.) involves induction of phytochelatins and antioxidant system in response to its accumulation. *Chemosphere*, 65, 1027–1039.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Sciences*, 7, 405–410.
- Mkumbo, S., Mwegoha, W., Renman, G., 2012. Assessment of the phytoremediation potential for Pb, Zn and Cu of indigenous plants growing in a gold mining area in Tanzania. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 2(4), 2425–2434.
- Monni, S., Uhlig, C., Hansen, E., Magel, E., 2001. Ecophysiological responses of *Empetrum nigrum* to heavy metal pollution. *Environmental Pollution*, 112, 121–129.
- Mudgal, V., Madaan, N., Mudgal, A., 2010. Heavy metals in plants: phytoremediation: Plants used to remediate heavy metal pollution. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1, 40–46.
- Nagajyoti, P.C., Lee, K.D., Sreekanth, T.V.M., 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8, 199–216.
- Nascimento, W.F., Siqueira, M.V.B.M., Ming, L.C., Peroni, N., Veasey, E.A., 2015. Distribution, management and diversity of the endangered Amerindian yam (*Dioscorea trifida* L.). *Brazilian Journal of Biology*, 75(1), 104–113.
- Oti Wilberforce, J.O., Nwabue, F.I., 2013. Uptake of heavy metals by *Dioscorea rotundata* (white yam) and *Ipomoea batatas* (sweet potato) from Enyigba lead-zinc derelict. *Environment and Pollution*, 2(2), 79–84.
- Pellet, D.M., Grunes, D.I., Kochian, L.V., 1995. Organic acid exudation as an aluminum tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta*, 196(4), 788–795.

- Pilon-Smits, E., 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 15–39.
- Pohlert, T., 2014. The Pairwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR). R package. Disponible en: <http://CRAN.R-project.org/package=PMCMR>. Accedido el 30/01/2017.
- Pourrut, B., Shahid, M., Douay, F., Dumat, C., Pinelli, E., 2013. Molecular mechanisms involved in lead uptake, toxicity and detoxification in higher plants. En: Dharmendra, K.G., Francisco, J.C., José, M.P. (eds.), *Heavy Metal Stress in Plants*, pp. 121–147. Springer, Berlin,
- Promnim, P., 2012. Potential use of pineapple (*Ananas comosus* L.) and cadmium tolerant bacteria to reduce cadmium toxicity in soil. Ph.D. Thesis, Newcastle University, UK.
- Pulford, I.D., Watson, C., 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees - a review. *Environment international*, 29(4), 529–540.
- R Development Core Team, 2016. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Raskin, I., Ensley, B.D., 2000. *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean up the Environment*. Wiley, New York.
- 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 ultramafic (serpentine) soils*, pp. 253–277. Intercept, Andover, U.K.
- Römken, P., Bouwman, L., Japenga, J., Draaisma, C., 2002. Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils. *Environmental Pollution*, 116, 109–121.
- Royal Botanic Gardens KewScience, 2017. Plants of the world online. Disponible en: <http://powo.science.kew.org/>. Accedido el 14/03/2017.
- Ruttens, A., Boulet, J., Weyens, N., Smeets, K., Adriaensen, K., Meers, E., Van Slycken, S., Tack, F., Meiresonne, L., Thewys, T., Witters, N., Carleer, R., Dupae, J., Vangronsveld, J., 2011. Short rotation coppice culture of willows and poplars as

- energy crops on metal contaminated agricultural soils. *International Journal of Phytoremediation*, 13, 194–207.
- Sainger, P.A., Dhankhar, R., Sainger, M., Kaushik, A., Singh, R.P., 2011. Assessment of heavy metal tolerance in native plant species from soils contaminated with electroplating effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 2284–2291.
- Salas Salmerón, F.K., 2007. Selección *in vitro* de plantas tolerantes a plomo para su uso en fitorremediación. Trabajo de Grado en Especialista en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F. Disponible en: <http://tesiuami.izt.uam.mx/uam/aspuam/presentatesis.php?recno=14183&docs=UAMI14183.PDF>. Accedido el 28/2/2014.
- Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, N.P., 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. *Nature Biotechnology*, 13(5), 468–474.
- Sanita di Toppi, L.S., Gabbrielli, R., 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botanic*, 41, 105–130.
- Sierra, L., 1993. El cultivo del banano. Producción y comercio. Editorial Gráficas Olímpica, Pereira.
- Sharma, P., Dubey, R.S., 2005. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 35–52.
- Sridhara Chary, N., Kamala, C.T., Samuel, S.R.D., 2009. Assessing risk of heavy metals from consuming food grown on sewage irrigated soils and food chain transfer. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69, 513–524.
- The Plant List, 2013. Version 1.1. Publicado en Internet. Disponible en <http://www.theplantlist.org/>. Accedido el 16/03/2017.
- Visoottiviseth, P., Francesconi, K., Sridokchan, W., 2002. The potential of Thai indigenous plant species for the phytoremediation of arsenic contaminated land. *Environmental Pollution*, 118(3), 453–461.

- Volke Sepúlveda, T., Velasco Trejo, J.A., de la Rosa Pérez, D.A., 2005. Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. Instituto Nacional de Ecología, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (INE-SEMARNAT), México, D.F. Disponible en: [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/B1E761B1E2F24A5C05257D490070F94F/\\$FILE/SuelosContaminadosPorMetalesYMetaloides.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con4_uibd.nsf/B1E761B1E2F24A5C05257D490070F94F/$FILE/SuelosContaminadosPorMetalesYMetaloides.pdf).
Accedido el 30/01/2017.
- Vyslouzilova, M., Tlustos, O., Szakova, J., Pablicova, D., 2003. As, Cd, Pb and Zn uptake by different *Salix* spp. grown at soils enriched by high loads of these elements. *Plant, Soil and Environment*, 49(5), 191–196.
- Wei, S., Zhou, Q., Mathews, S., 2008. A newly found cadmium accumulator - *Taraxacum mongolicum*. *Journal of Hazardous Materials*, 159, 544–547.
- Weiqliang, L., Mohammad, A., Khan Shinjiro Y., Yuji, K., 2005. Effects of heavy metals on seed germination and early seedling growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regulation*, 46, 45–50.
- Wenzel, W.W., Unterbrunner, R., Sommer, P., Sacco, P., 2003. Chelate assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments. *Plant Soil*, 249, 83–96.
- Wickham, H., 2009. *ggplot2: elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.
- Wierzbicka, M., Obidzinska, J., 1998. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. *Plant Science*, 137, 155–171.
- Witters, N., van Slycken, S., Ruttens, A., Adriaensen, K., Meers, E., Meiresonne, L., Tack, F.M.G., Thewys, T., Laes, E., Vangronsveld, J., 2009. Short-rotation coppice of willow for phytoremediation of a metal-contaminated agricultural area: a sustainability assessment. *BioEnergy Research*, 2, 144–152.
- Wong, M.H., 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50(6), 775–780.

- Yang, Y.Y., Jung, J.Y., Song, W.Y., Suh, H.S., Lee, Y., 2000. Identification of rice varieties with high tolerance or sensitivity to lead and characterization of the mechanism of tolerance. *Plant Physiology*, 124(3), 1019–1026.
- Yoon J., Cao, X., Zhou, Q., Ma, L.Q., 2006. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. *Science of the Total Environment*, 368(2-3), 456–464.
- Zhao, K., Liu, X., Xu, J., Selim, H.M., 2010. Heavy metal contaminations in a soil–ricesystem: identification of spatial dependence in relation to soil properties of paddy fields. *Journal of Hazardous Materials*, 181, 778–787.
- Zhuang, P., McBride, M.B., Xia, H., Li, N., Li, Z., 2009. Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *Science of the Total Environment*, 407, 1551–1561.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES GENERALES

Las conclusiones obtenidas en el presente estudio pueden resumirse de la siguiente manera:

1. La zona de Haina (República Dominicana) presenta un fuerte grado de contaminación debido básicamente al Pb.

2. Los suelos de las zonas muestreadas, situadas en el entorno de la antigua fábrica de baterías ácidas de Haina, así como los ubicados en áreas susceptibles de recibir arrastres a favor de la pendiente, presentan elevados valores de Pb con respecto a los “valores límite” legales existentes en diversas legislaciones internacionales. Lo mismo sucede, aunque a menor escala, con el Zn en la zona comercial. Mientras que no existe ningún riesgo en lo relativo a la presencia de Cr en estos suelos.

3. En las zonas con niveles moderados o elevados tanto de Pb (en el emplazamiento de la antigua fábrica de baterías y su entorno, así como en zonas de influencia a favor de pendiente), como de Zn (en el entorno de la zona comercial) se deberían adoptar medidas concretas para minimizar los riesgos sobre el ecosistema natural, los productos agrícolas y la población.

4. Es urgente la implementación de un programa de mitigación aplicando técnicas como la fitorremediación, para la reducción de carga metálica contaminante en estos suelos. Es importante, a como fitoestabilizadores demás, realizar estudios de evaluación de otros elementos pesados y monitorear de forma periódica el nivel de contaminación de Pb en aire, agua y suelo en esta zona, así como en los cultivos agrícolas.

5. Se excluye el uso de todas las especies de plantas silvestres analizadas procedentes de la zona de Haina para trabajos de fitoextracción de Pb y Cr. Ello es debido a que todas ellas presentaron en sus partes aéreas menor concentración de estos metales que las concentraciones del suelo y a que la concentración de ambos metales fue menor en las partes aéreas que en las raíces, a excepción de *Acalypha alopecuroides*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum* y *Sida rhombifolia* únicamente para el caso del Cr.

6. Todas las especies silvestres analizadas, a excepción de *Achyranthes aspera*, podrían usarse para la fitoextracción de Zn por presentar una concentración mayor de este metal en sus partes aéreas que en el suelo y que en sus raíces. No obstante, dado que los valores máximos de acumulación de Zn observados en las plantas de la zona de estudio fueron aproximadamente una cuarta parte de la cantidad necesaria para que una especie sea considerada como hiperacumuladora, estas especies tendrán una utilidad limitada en labores de fitoextracción de este metal.

7. El uso potencial de las especies analizadas para la revegetación de suelos contaminados resulta atractivo al tratarse de especies tropicales que pueden ser consideradas como no acumuladoras de metales pesados o metal-excluyentes, pero sí adecuadas como fitoestabilizadoras.

8. Las especies estudiadas en la zona de Haina que podrían poseer un beneficio para ser usadas como fitoestabilizadoras en áreas con características similares, enumeradas de mayor a menor capacidad de bioacumulación de Pb, son las siguientes: *Acalypha alopecuroides*, *Achyranthes aspera*, *Amaranthus dubius*, *Heliotropium angiospermum* y *Sida rhombifolia*, aunque de todas ellas la primera es la de menor interés dada su baja producción de biomasa.

9. Todos los taxones de interés agronómico que se han sometido a tratamientos con Pb en cultivos *in vitro* han presentado en general una alta potencialidad dentro del campo de la fitoextracción, en tanto y en cuanto han demostrado capacidad para acumular cantidades muy elevadas de Pb, además de unos elevadísimos valores en sus Factores de Bioacumulación. En sentido contrario, ninguno de los taxones considerados en esta experiencia han presentado características compatibles con la fitoestabilización.

10. De los nueve taxones cultivados *in vitro*, los cuatro del género *Musa* (*Musa* Grupo AAB, *Musa* Grupo AAAB, *Musa acuminata* y *Musa* × *paradisiaca*, por este orden), junto con la especie *Ananas comosus*, presentan la mayor potencialidad dentro del campo de la fitoextracción de Pb de suelos contaminados, seguidos a una buena distancia, por los tres taxones del género *Chrysanthemum* (*Chrysanthemum* 'Sheena', *Chrysanthemum* 'Reyellow' y *Chrysanthemum* 'Renella', por este orden) y por la especie *Dioscorea trifida*.

11. Los taxones del género *Chrysanthemum* considerados, además de ser tenidos en cuenta para labores de fitoextracción, podrían ser utilizados para la producción de flor ornamental, ya que presentan una buena bioacumulación de Pb, una escasa afección del Pb del sustrato sobre su producción de biomasa y un moderado efecto negativo sobre su elongación radical.

12. El cultivo de *Ananas comosus* podría ser interesante con fines productivos comerciales en emplazamientos contaminados por elementos traza, ya que, según datos de la literatura, sus frutos acumulan concentraciones insignificantes de metales pesados y por tanto podrían ser usados para consumo humano; sería necesario, no obstante, llevar un estricto control de los niveles de transferencia de los elementos tóxicos a éstos. Aunque la

especie ha mostrado una cierta intolerancia a las concentraciones crecientes de Pb en el sustrato, expresada en forma de disminución del crecimiento radicular, ha presentado unos altos niveles de bioacumulación del Pb, así como una buena producción de biomasa, incluso en concentraciones medias de Pb en el sustrato.

13. Los taxones del género *Musa* estudiados no parecen recomendables para su cultivo en suelos contaminados por elementos tóxicos hasta que estos sustratos muestren unos niveles aceptables de estos contaminantes, ya que a pesar de haber presentado los más altos niveles de bioacumulación de todos los taxones estudiados, han mostrado una alta intolerancia a nivel radicular, e incluso una baja producción de biomasa en sustratos con concentraciones moderadas o medias de Pb.

14. La especie *Dioscorea trifida* también tendría cierto interés en el campo de la fitoextracción. Aún tratándose de la especie con menor tasa de bioacumulación de Pb en sus tejidos, su Factor de Bioacumulación ha sido muy alto y ha sufrido una moderada afección de su producción de biomasa como consecuencia de la presencia creciente de Pb en el sustrato. Sin embargo, dado que se ha reportado en la literatura que taxones próximos de este género muestran una importante afección de sus partes subterráneas por metales pesados, y a que la parte comestible de esta planta es un tubérculo, sería inviable su aprovechamiento alimenticio.

15. El presente estudio es pionero en el contexto de la investigación de especies potencialmente útiles en labores de fitorremediación en la zona de Haina y del Caribe en su conjunto. Dado el interés de los resultados obtenidos, se plantea la necesidad de la realización de nuevos trabajos de tipo experimental para ampliar así el conjunto de taxones disponibles para este tipo de biotecnologías descontaminadoras y de recuperación ambiental de ambientes degradados por procesos de contaminación por elementos traza tóxicos en áreas de clima tropical.