

Gutiérrez-Ginés, M^a J.; Pastor, J. y Hernández, A. J. 2011. Impacto de la contaminación por Cu, Zn, y Pb de suelos de minas abandonadas en una especie cultivada en ellos. En: *Terceras Jornadas de Jóvenes Investigadores de la Universidad de Alcalá*. J. Aguado, et al. (eds.): 105-116. Ed. Universidad de Alcalá. ISBN: 978-84-8138-925-8.

IMPACTO DE LA CONTAMINACIÓN POR Cu, Zn Y Pb DE SUELOS DE MINAS ABANDONADAS EN UNA ESPECIE CULTIVADA EN ELLOS

M.J. Gutiérrez-Ginés¹, J. Pastor² y A.J. Hernández¹

¹Departamento de Ecología. Universidad de Alcalá.

²Departamento de Biología ambiental, CCMA, MNCN (CSIC), Madrid.

Resumen: Durante varias décadas, el centro de España ha albergado una sustancial actividad minera. Aunque actualmente estas minas se encuentran abandonadas, la mayoría de los suelos de estos emplazamientos presentan cantidades de metales pesados en su capa superficial muy superiores a los niveles de referencia. Este es el caso de una mina abandonada de cobre en la provincia de Madrid y de otra de plata en la provincia de Toledo, escenarios de este trabajo. El trabajo realizado se sitúa en el marco del estudio de fitorremediación de este tipo de suelos.

Mediante un bioensayo realizado en microcosmos con suelos de este tipo de escenarios y en invernadero durante 16 semanas, se estudia el comportamiento de *Avena sativa*, L. en los mismos. Se muestran los resultados provenientes de la cuantificación de parámetros relacionados con el desarrollo de esta planta de cultivo y los obtenidos mediante el análisis químico de sus partes principales (raíz y parte aérea). La discusión de los mismos, permite hacer una valoración respecto a la toxicidad que provoca el Cu, y la posible tolerancia al Zn y Pb por esta especie. Así mismo, se hacen algunas consideraciones respecto a la capacidad fitorremediadora de una especie herbácea en escenarios reales de contaminación por más de una metal pesado.

1. Introducción

La contaminación del suelo consiste en una degradación química del mismo, como consecuencia de la acumulación de sustancias tóxicas en unas concentraciones que superan su capacidad natural de amortiguación y que modifican negativamente sus propiedades. Aunque esta acumulación puede resultar de procesos naturales, normalmente es consecuencia de actividades humanas. La contaminación puede afectar a la capacidad del suelo de producir alguna o varias de sus funciones, como por ejemplo, el reciclaje de nutrientes o la producción de biomasa, afectando de forma negativa a los ecosistemas que sustentan. Partimos de que cualquier contaminante es ocasiona un estrés en los seres vivos [1], desde respuestas fisiológicas y morfológicas de los organismos, hasta el impacto sobre el funcionamiento y las propiedades de los ecosistemas. Ello constituye el marco conceptual del trabajo. No obstante, se muestra en este apartado algunos aspectos generales relativos a la contaminación de los suelos.

Los contaminantes, aparte de producir efectos negativos en los suelos en los que se encuentran, también pueden emigrar de la zona inicialmente contaminada afectando a otros sistemas más o menos cercanos. En función de las características de los contaminantes (si son metales pesados, por ejemplo), estos pueden emigrar disueltos en el agua de escorrentía superficial y llegar a cursos de agua cercanos, o incluso pasar a las aguas subterráneas. Los compuestos volátiles pueden incorporarse a la atmósfera. Y, por último, si se encuentran biosiponibles en un suelo, las plantas son capaces de incorporarlos y acumularlos en sus tejidos pudiendo pasar a niveles superiores de la red trófica si se trata de metales pesados.

Así pues, aunque son varios los agentes que pueden causar contaminación en un suelo (lluvias ácidas, exceso de sales, contaminantes orgánicos, metales pesados), es a estos últimos a los que nos vamos a referir. Tradicionalmente se ha llamado metal pesado a aquel elemento metálico que presenta una densidad superior a 5 g/cm^3 . Sin embargo, actualmente a efectos prácticos, en estudios medioambientales se amplía esta definición a todos aquellos elementos metálicos o no, de mayor o menor densidad, que aparecen comúnmente asociados a problemas de contaminación, por lo que también se pueden incluir, por ejemplo, arsénico, bario, aluminio o selenio. En cualquier caso, no se puede olvidar que hay elementos considerados como micronutrientes u oligoelementos (necesarios para todos los seres vivos aunque entran en su composición en bajas cantidades) como son Fe, Cu, Mg, Zn, Co, Mn y Se. Si alguno de ellos se acumula en exceso puede ocasionar toxicidad. De ahí, que sea muy importante tenerlos en cuenta en cualquier tipo de evaluación ecotoxicológica. En ese caso se comportan como los metales pesados que pueden afectar a los organismos (Pb, Cd, Hg, As) cuando se encuentran en cantidades notables en los suelos.

La actividad minera es una importante fuente de contaminación por metales pesados, y durante décadas el centro de España ha albergado esta actividad. Aunque actualmente estas minas se encuentran abandonadas, sus efectos todavía persisten, y es frecuente encontrar escombreras de grandes dimensiones, que todavía generan contaminación, afectando a zonas alejadas incluso varios cientos de metros de ellas, donde se pueden encontrar uno o más metales pesados en la capa superficial de los suelos en concentraciones superiores a los niveles de referencia permitidos [2].

Después de las consideraciones anteriores cabe preguntarse qué se hace con los suelos contaminados. En este sentido, el Plan Regional de Suelos Contaminados de la Comunidad de Madrid establece un Esquema General de Suelos Contaminados [3] en el que propone un protocolo de actuación con dos etapas fundamentales: la primera de diagnóstico y la segunda de intervención. La primera etapa consiste en la caracterización del tipo de contaminación en un emplazamiento, la comparación con los Niveles de Referencia y, como último paso, la realización de un análisis de riesgos. En caso de que el análisis de riesgos concluya que ese suelo contaminado suponga un riesgo para los ecosistemas y las personas, se pasa a la fase de Intervención. En dicha fase se estudia el emplazamiento con vistas a decidir qué metodología de recuperación es la mejor para ese caso concreto, se elabora un proyecto de descontaminación y se lleva a cabo.

Sin embargo, no es hasta 1998 cuando aparecen por primera vez los suelos contaminados en la normativa española con la Ley de Residuos [4]. Sin embargo los suelos contaminados en España han sido objeto de estudio desde antes de que se tuvieran en cuenta por las Administraciones [2], dando lugar, entre otros, a las tesis doctorales de Adarve [5], y de Urzelai [6], por citar a investigadoras de nuestro grupo. Algunas personas de ese equipo de investigadores ha estado siguiendo un protocolo

propio para el diagnóstico ecotoxicológico de emplazamientos con suelos contaminados [7], basado en la caracterización del emplazamiento, el estudio de los posibles ecosistemas afectados, la realización de bioensayos y que finalmente pueda dar lugar a la realización de un análisis de riesgos para la salud de los ecosistemas y la salud pública. Es importante mencionar que no se trata de un protocolo reduccionista, en el sentido de pasos cronológicos que se deben ir abordando, sino de metodologías complementarias que conducen a llevar a término el último paso del diagnóstico para poder hacer un pronóstico realista en cada caso.

De todas las etapas descritas en el protocolo mencionado, este trabajo se centra en la realización de bioensayos, por ser considerado un método fundamental para estudiar la biodisponibilidad de contaminantes del suelo y su posible toxicidad para las plantas. En el contexto de gestión de localidades con sustancias químicas peligrosas, los bioensayos en microcosmos pueden ser definidos como la exposición de indicadores biológicos a muestras ambientales recolectadas en campo (en nuestro caso suelos), con el fin de detectar la presencia de toxicidad y/o identificar el potencial de los efectos tóxicos sobre las especies residentes [1]. Según Verhoef y Van Gestel, [8] este método se puede aplicar también a determinar la biodisponibilidad de los contaminantes de los suelos como indicador del potencial de riesgo a niveles tróficos superiores.

Exponemos, por tanto, los resultados de un bioensayo en microcosmos llevado a cabo con el objetivo de conocer el efecto de los metales pesados de la capa superficial edáfica de dos emplazamientos de minas abandonadas del centro peninsular en el comportamiento de *Avena sativa* L., especie cultivada en el territorio y consumida por personas y ganado.

2. Material y métodos

2.a. Escenarios con suelos contaminados

Los dos emplazamientos considerados se encuentran descritos en Hernández y Pastor [9]). Se trata de dos antiguas minas: una de plata en la provincia de Toledo y otra de cobre en la provincia de Madrid. En el primer caso se encuentran pastos pobres, en retamares aclarados, característicos del territorio mediterráneo semiárido del centro peninsular; las especies herbáceas son pastadas por ovino. Una gran parte del entorno de este emplazamiento se aprovecha para el cultivo cerealista, y todo él forma parte de un coto de caza, donde abundan los conejos. En el segundo emplazamiento se encuentran pastos de vacuno esencialmente, y es atravesado por una vía pecuaria. Las comunidades vegetales presentan mayor cobertura en las cotas más bajas del emplazamiento, que son también, las correspondientes a las mayores concentraciones de cobre en la capa superficial edáfica.

2.b. Diseño experimental, montaje y monitorización

Se usaron suelos de ambos emplazamientos para llevar a cabo un bioensayo en microcosmos en ambiente controlado. Los lugares más representativos de cada uno de los emplazamientos se eligieron para tomar los suelos, cuyo pH, porcentaje de materia orgánica y contenido de Zn, Cu y Pb se puede ver en la tabla 1. Como suelo control se usó un suelo de cultivo del mismo territorio al que pertenecen las minas abandonadas, pero sin concentración importante de metales. Se puede comprobar que en todos los

suelos hay por lo menos dos de los metales con niveles superiores a las referencias de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Los suelos recogidos se trasladaron al laboratorio, se secaron a T^a ambiente y no se tamizaron con el fin de conservar los agregados del suelo y el banco de semillas para su uso en los microcosmos. Los microcosmos son cubetas de plástico provistas de una rejilla para favorecer el drenaje, de 10x19x14 cm donde se colocó 1 kg de suelo en cada uno de ellos. Se dispusieron tres replicaciones por cada tratamiento (figura 1). En cada microcosmos se sembraron 5 semillas de *Avena sativa* L. pregerminadas en placa Petri y cámara de crecimiento. El experimento se llevó a cabo durante 16 semanas en invernadero con condiciones constantes de T^a (18 – 24 °C) y humedad (70 – 80 %). Todos los días se regaban con 100 ml de agua desionizada.

Tabla 1. pH, material orgánica (%) y concentración pseudototal (mg/Kg) de metales en los suelos elegidos para el bioensayo. *En el abandono de la mina, se aplicó CaCO₃ sobre este punto, motivo por el cual presenta un pH inusual.

Suelos	pH	MO	Zn	Cu	Pb
<u>Mina de plata</u>					
Suelo 1	6,3	9,0	2410	31,5	1215
Suelo 2	5,4	2,9	1983	36	1742
Suelo 3	7,2*	9,7	5095	85	3855
<u>Mina de cobre</u>					
Suelo 4	5,2	4,7	133	971	126
Suelo 5	5,7	15,7	362	2725	152
<u>Suelo control</u>	5,9	0,82	12	5,7	n.d.
Niveles de referencia (OMS)			140	36	-

A lo largo del experimento, se llevó a cabo una monitorización con tres observaciones en las que se determinó la altura máxima de los ejemplares y el número de hojas. Al final del experimento las partes aéreas se separaron de las raíces, se lavaron con agua desionizada, y se secaron en una estufa a 70 °C durante 48 horas, para determinar su peso seco.

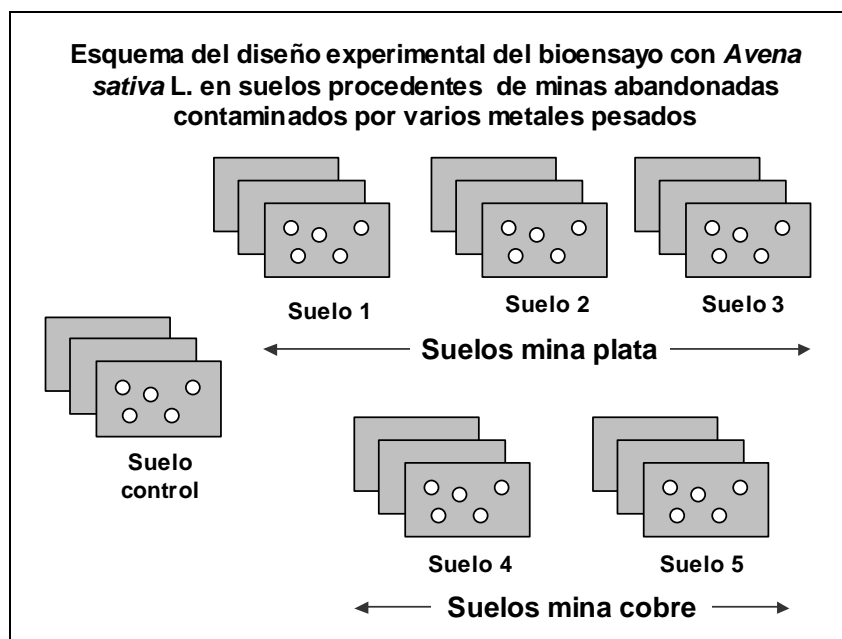


Figura 1. Diseño experimental del bioensayo en microcosmos.

2.c. Análisis químicos

El pH y el contenido en materia orgánica se determinaron siguiendo los procedimientos descritos por Hernández y Pastor [10]. Los contenidos pseudototales de Zn, Cu y Pb de los suelos se analizaron por espectroscopía de emisión por plasma (ICP-OES) previa digestión con HNO₃ y HClO₄ en proporción 4:1. Las raíces y partes aéreas secas se molieron, se extrajeron los elementos Zn, Cu y Pb mediante HNO₃ y HClO₄, y se midieron con ICP-OES.

2.d. Análisis numéricos

Los resultados se analizaron mediante ANOVA y un test de rangos múltiples (LSD), cuando una transformación logarítmica era suficiente para igualar las varianzas de los datos, y mediante el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (KW) cuando no era suficiente. En los resultados se muestran los grupos con medias diferentes mediante letras minúsculas diferentes. El nivel de significación puede ser de 95% (*), 99% (**) o 99,9% (***). Se usó el programa informático Statgraphics Plus 5.0.

3. Resultados y discusión

Tanto el peso seco (figura 2) como la altura máxima y el número de hojas (figura 3) se suelen usar como indicadores de toxicidad producida por metales pesados [11], [12]. Se comprueba que los suelos 4 y 5 en los que el Cu se encuentra en importante concentración produjeron una clara toxicidad sobre esta especie, ya que vio mermado su crecimiento de forma significativa respecto a las avenas crecidas en los demás suelos. Otro síntoma importante que presentaron estas avenas fue su incapacidad de fructificar. Estos resultados son análogos a los expuestos en bastantes trabajos relacionados con la acción del Cu en planta. Así, entre otros podemos citar el estudio de Guo *et al.*, [13], que demostró efectos letales de Cu en plantas de maíz sobre suelos ácidos en los que se añadió 200 mg/kg de este metal, y una reducción del 50% del crecimiento de las plantas en concentración de 62 mg/Kg.

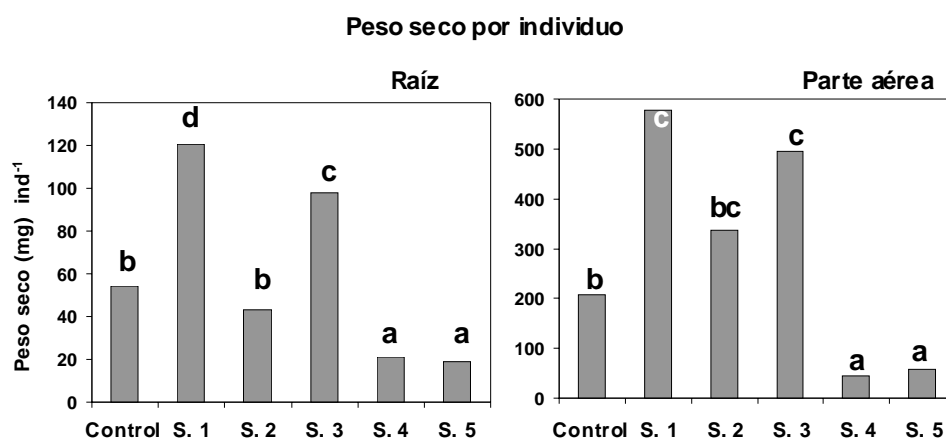


Figura 2. Peso seco medio por individuo de raíces y partes aéreas de *Avena sativa* L. en cada uno de los suelos donde creció.

Por el contrario, las avenas que crecieron sobre los suelos de la mina de plata (suelos 1, 2 y 3), contaminados por Zn y Pb, presentaron crecimientos similares o superiores a las crecidas sobre suelo control. Esto puede indicar una tolerancia de esta especie a este tipo de contaminación, a pesar de que Kabata-Pendias y Mukherjee [14],

en su exhaustivo estudio sobre elementos traza, concluyen que concentraciones de 400 y 500 mg/Kg de Zn y Pb respectivamente en los suelos pueden producir toxicidad en plantas, concentraciones mucho menores que las encontradas en los suelos usados para este experimento.

Los resultados de los análisis de partes aéreas y raíces (tabla 2) muestran que la avena es capaz de tomar los metales del suelo e incorporarlos a sus tejidos. La concentración de metales es mayor en raíces que en partes aéreas. Pero esta diferencia es más marcada en el caso del Pb que en el Zn y el Cu, indicando que ese metal queda muy retenido en las raíces y es poco móvil a lo largo de la planta. El Cu y el Zn, por el contrario, pasan en mayor cantidad a las partes aéreas, donde vemos que alcanzan niveles muy elevados. En este experimento probamos la gran capacidad de acumulación de metales que tiene *Avena sativa* L. en estos suelos, incluso mayor que las especies herbáceas nativas de estos lugares [15], [16]; y mucho mayores que cualquiera de las expuestas en [14], con concentraciones máximas en gramíneas de 33 mg/Kg, 80 mg/Kg y 4,6 mg/Kg de Cu, Zn y Pb respectivamente.

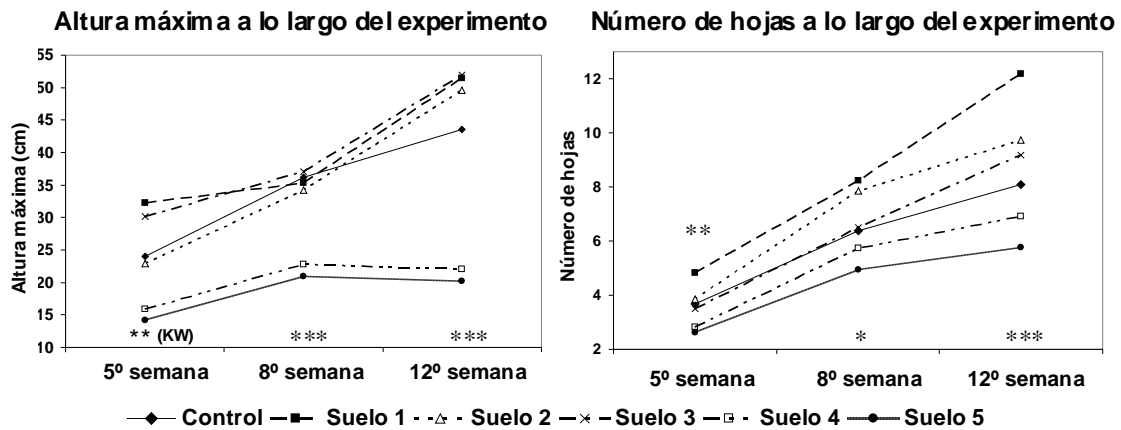


Figura 3. Altura máxima y número de hojas de las avenas en las tres observaciones llevadas a cabo a lo largo del experimento.

Tabla 4. Niveles totales de metales pesados (mg/kg) (medias y desviaciones típicas), en partes aéreas y raíces de plantas de avena crecidas en los suelos de las dos minas y control.

Suelos		Parte aérea			Raíz		
		Zn * (KW)	Cu * (KW)	Pb	Zn ***	Cu ***	Pb
<u>Mina de plata</u>							
Suelo 1	M	729	9,9	51	5572 c	102 b	1052
	(d.t.)	(532)	(6,0)	(44)	(2737)	(37)	(675)
Suelo 2	M	2040	8,6	68	4894 c	51 a	1251
	(d.t.)	(435)	(6,1)	(38)	(3614)	(27)	(209)
Suelo 3	M	370	8,4	58	2418 bc	85 ab	2047
	(d.t.)	(41)	(6,0)	(32)	(1409)	(24)	(401)
<u>Mina de cobre</u>							
Suelo 4	M	1192	237	0,0	983 b	1521 c	10
	(d.t.)	(1404)	(56)	(0,0)	(730)	(134)	(15)
Suelo 5	M	383	117	0,0	220	2201	12
	(d.t.)	(148)	(13)	(0,0)			
<u>Suelo Control</u>							
	M	53	9,5	0,0	108 a	46 a	0,0
	(d.t.)	(60)	(3,6)	(0,0)	(53)	(14)	(0,0)

A la vista de estos resultados, pasamos a hacer unas breves consideraciones acerca de la *remediación* de suelos contaminados. Esta es una técnica basada en el uso de

plantas, enmiendas químicas o microbiológicas del suelo y técnicas agronómicas para eliminar, retener, o disminuir la toxicidad de los contaminantes del suelo. Este grupo de *fitotecnologías* reúne un gran número de ventajas, especialmente la limpieza y la economía; no utilizan reactivos químicos peligrosos, ni afectan negativamente a la estructura del suelo. Entre ellas, la más utilizada hasta la fecha es la fitorremediación puesto que el proceso que se lleva a cabo se realiza *in situ* evitando costosos transportes. Sin embargo, el uso de plantas extractoras de contaminantes es una técnica que debe utilizarse con mucha vigilancia *in situ*, ya que puede tratarse del empleo de plantas comestibles por el ganado y la especie humana. Y, en todo caso, ser empleada con adecuación de estrategias educativas para las poblaciones cercanas al emplazamiento contaminado [17]. En el experimento expuesto hemos probado la capacidad de acumulación de *Avena sativa* L., con el fin de saber si es una candidata a labores de fitorremediación. A la vista de los resultados obtenidos, sólo en los suelos de la mina de plata (con altos contenidos en Zn y Pb) ha crecido de forma adecuada, y por lo tanto sólo en ellos se puede plantear utilizar esta especie como posible remediadora de dicha contaminación. La toxicidad a que se ve sometida esta especie creciendo en suelos con altos contenidos de Cu, nos desaconseja su uso en suelos con este tipo de contaminación.

No obstante, estos resultados también se pueden estudiar desde el punto de vista del paso de los metales acumulados por la planta a niveles superiores de la red trófica, puesto que es una especie consumida por personas y por ganado. Los niveles de Zn en partes aéreas de avena están en una concentración entre 8 y 40 veces mayor que la referencia de la OMS para alimentos, hasta 40 veces mayor en Pb, y hasta 10 veces mayor en Cu. Por todo lo cual, para la utilización de una planta como remediadora de metales pesados de un suelo se deben tener en cuenta otros factores que no sean solamente el saber que puede ser tolerante a algunos de ellos.

4. Conclusiones

Avena sativa L. es una especie que no tolera altas concentraciones de Cu en el suelo donde crece, puesto en evidencia por el mermado crecimiento y la pérdida de la capacidad de fructificar. Sin embargo, ha demostrado ser tolerante para crecer en suelos con elevados niveles de Zn y Pb en su capa superficial. Podemos decir que esta especie presenta una gran capacidad de acumulación de metales, pudiendo ser candidata para labores de limpieza de suelos contaminados por los mismos, excepto por Cu. En ese caso, se hace necesario una vigilancia del cultivo a fin de que no repercuta en riesgo para la salud de personas y ganado que consumen avena.

Agradecimientos

A los proyectos CTM 2008-04827/TECNO del Ministerio de Ciencia e Innovación y P2009/AMB-1478A, Programa EIADES de la Comunidad de Madrid.

Referencias bibliográficas

[1] A. J. Hernández, J. Pastor. La restauración ecológica de ecosistemas degradados. Marcos conceptuales y metodologías para la acción. En: R. Millan, C. Lobo (eds.) Contaminación de Suelos. Tecnologías para su recuperación. Ed. CIEMAT, 61-82. (2008).

- [2] J. Pastor, A. J. Hernández. La restauración en sistemas con suelos degradados: estudios de casos en vertederos, escombreras y emplazamientos de minas abandonadas. En: R. Millan, C. Lobo (eds.) Contaminación de Suelos. Tecnologías para su recuperación. Ed. CIEMAT, 539 – 560. (2008).
- [3] Comunidad de Madrid. Plan Regional de Suelos Contaminados (2006-2016) de la Comunidad de Madrid. En: Estrategia de Residuos de la Comunidad de Madrid (2006-2016). Ed. Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, 435-469 (2006).
- [4] BOE. LEY 10/1998, de 21 de abril, de Residuos. BOE de 22 de abril.
- [5] M.J. Adarve. Análisis de la incidencia ambiental de vertederos de residuos sólidos urbanos en aguas, suelos y especies vegetales de zonas de descarga. Tesis Doctoral. Universidad de Alcalá (1993).
- [6] A. Urzelai. Estructura de sistemas herbáceos mediterráneos sometidos a la acción antrópica y posibles mecanismos de "resiliencia". Tesis Doctoral. Universidad de Alcalá (1997).
- [7] A. J. Hernández. Metodología para el diagnóstico ecotoxicológico de vertederos sellados. En: A.J. Hernández y C. Bartolomé (eds.) Estudio multidisciplinar de vertederos sellados. Caracterización y pautas de recuperación. Ed. Servicio de Publicaciones. Universidad de Alcalá, 133 – 149 (2010).
- [8] H.A. Verhoef, C.A.M. van Gestel. Methods to assess the effects of chemicals on soils. En: R.A. Linthurst, P. Bourdeau, R.G. Tardiff (eds.) Methods to Assess the Effects of Chemicals on Ecosystems. Ed John Wiley & Sons Ltd., New York, 223 – 257 (1995).
- [9] A. J. Hernández, J. Pastor. Ecosystems health and geochemistry: concepts and methods applied to abandoned mine sites. En: J. Loredó (ed) The 23rd International Applied Geochemistry Symposium (IAGS 2007). Ed. Universidad de Oviedo, 219 - 231 (2007).
- [10] A. J. Hernández, J. Pastor. Técnicas analíticas para el estudio de las interacciones suelo-planta. Henares. Revista de Geología, **3**, 67 – 102 (1989).
- [11] J. Pastor, A. Gutiérrez-Maroto, A. J. Hernández. Biomarcadores a nivel de una comunidad de pasto y de una población herbácea forrajera para suelos contaminados por cobre. Anales de Biología, **25**, 103-108 (2003).
- [12] S. Astolfi, S. Zuchi, C. Passera. Effects of cadmium on the metabolic activity of *Avena sativa* plants grown in soil and hydroponic culture. Biologia Plantarum, **48** (3), 413 – 418 (2004).
- [13] X. Y. Guo, Y. B. Zuo, B. R. Wang, J. M. Li, Y. B. Ma. Toxicity and accumulation of copper and nickel in maize plants cropped on calcareous and acidic field soils. Plant and Soil, **333**, 365–373 (2010).
- [14] A. Kabata-Pendias, A. B. Mukherjee. Trace Elements from Soil to Human. Ed. Springer-Verlag, Berlin. (2007)
- [15] Hernández A.J. y Pastor, J.. Incidencia conjunta de metales pesados en pastos de vacuno ubicados en el entorno de una mina abandonada en la Sierra de Guadarrama. En: B. De La Roza; A. Martínez-Fernández y A. Carballal (eds.) Producciones agroganaderas: Gestión eficiente y conservaciones del medio natural, 955 - 963 (2005).
- [16] J. Pastor, M. J. Gutiérrez-Ginés, A. J. Hernández. Contenidos de metales en plantas y estudio de la generación de lixiviados en una antigua mina de plata con contenidos elevados de Zn y Pb. En: J.M. Estavillo (ed-coord.) Aspectos fisiológicos, agronómicos y ambientales de la nutrición mineral de las plantas. Ed. Universidad del País Vasco, 217 – 223 (2010).

[17] M. J. Gutiérrez-Ginés, J. Pastor, A. J. Hernández. Action of heavy metals of soils on *Avena sativa* L. and education strategies. Fresenius Environmental Bulletin, **19**, 3-9 (2010).