

## ESTABILIZACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS: EL CASO DE AZNALCÓLLAR

Francisco Cabrera Capitán  
*Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología  
CSIC. Sevilla*

Los metales pesados y otros elementos traza constituyen una peligrosa fuente de contaminación para las aguas, los suelos y los sedimentos. A diferencia de los contaminantes orgánicos, no se degradan y son relativamente inmóviles, por lo que su remoción de suelos y sedimentos es lenta y difícil. Por estas razones, la recuperación de suelos contaminados con elementos traza es uno de los problemas más difíciles para las tecnologías de descontaminación y es necesario diseñar un método específico para cada sistema suelo-planta (Kabata-Pendias y Pendias, 1992).

Clásicamente, la restauración de los suelos contaminados por elementos traza se ha llevado a cabo mediante: 1) excavación, remoción y traslado a vertedero, 2) aislamiento y cubrimiento del suelo contaminado; 3) mezclado de la capa superficial contaminada con las más profundas, no contaminadas; 4) aplicación de enmiendas para la estabilización e inmovilización de los elementos contaminantes (Iskandar y Adriano, 1997; Brown, 1997).

Como alternativa a la remoción y vertido surgieron las denominadas técnicas innovadoras, basadas en la aplicación de procesos químicos, físicos y biológicos, que proporcionan soluciones más permanentes y menos costosas (USEPA, 1996; Evanko y Dzombak, 1997). Sin embargo, la mayoría de las técnicas basadas en procesos físicos o físico-químicos, como por ejemplo la extracción físico-química de metales por lavado ácido y electro-ósmosis, o la inmovilización *in situ* mediante vitrificación, etc. son muy drásticas, siguen siendo caras, precisan de equipos y personal especializado, sólo son adecuadas para la descontaminación *ex situ* o/y de áreas pequeñas y además suponen un deterioro muy importante para el suelo y el entorno. La actividad biológica de los suelos tratados por estas técnicas queda mermada, así como sus propiedades químicas y físicas, por lo que los suelos no quedan aptos para el cultivo o el desarrollo de las plantas (Brown, 1997; USEPA, 1997a; Evanko y Dzombak, 1997). En cambio, las técnicas basadas en procesos biológicos, denominadas genéricamente de bio-recuperación, favorecen la autodepuración de los suelos, dejándolos biológicamente activos y además son menos costosas que las anteriores, aunque más lentas.

En sentido amplio, la **bio-recuperación** consiste en la utilización de organismos vivos para degradar, transformar, inmovilizar o extraer contaminantes de un medio. Sin embargo, este término está restringido normalmente al uso de microorganismos (algas, bacterias y hongos), utilizándose el término **fito-recuperación (fito-**

**restauración**) para aquellas técnicas que emplean plantas superiores para tratar los suelos contaminados (USEPA, 1995; Van Cauwenberghe y Roote, 1998).

En **fito-recuperación** se pueden diferenciar dos estrategias: contención y extracción (Wenzel et al., 1999). La estrategia de contención incluye la **fito-estabilización** y la **fito-inmovilización**, la primera basada en la acción mecánica de las raíces, que evitan la erosión y el transporte del suelo, así como en la disminución de la lixiviación debido al aumento de la evapotranspiración. La **fito-inmovilización** o **rizofiltración** implica la absorción, precipitación y acumulación de los contaminantes en la zona radical, que se lleva a cabo en colaboración con los microorganismos existentes en dicha zona. Entre los métodos basados en la extracción de los contaminantes se encuentran: 1) la **fito-extracción** que consiste en la reducción de la concentración de los contaminantes del suelo mediante su extracción por plantas; 2) la **fito-volatilización** consistente en la absorción del contaminante por las raíces de plantas y la formación de compuestos volátiles en su interior, que son excretados por transpiración, lo cual es factible sólo en el caso de algunos elementos (Hg, Cd, As); 3) La **fito-degradación** utiliza plantas y microorganismos asociados para degradar los contaminantes orgánicos, por lo que no es aplicable a los elementos traza.

El método ideal para la recuperación de los suelos contaminados por elementos traza sería aquel que tratara y/o estabilizara los contaminantes *in situ* de una forma efectiva y barata, sin deteriorar las propiedades del suelo. A esta clase de métodos pertenecen los métodos de **estabilización con enmiendas**, la **bio-recuperación** y la **fito-recuperación**. Estas técnicas de recuperación *in situ* se clasifican como técnicas de *rehabilitación blandas* o de *bajo impacto*, ya que la incorporación de enmiendas y el establecimiento de plantas, constituyen un enfoque más natural y respetuoso con el medio ambiente, que los métodos clásicos basados en procesos físico-químicos (Vangronsveld y Cunningham, 1998). Estas técnicas son además bastante menos costosas que las técnicas clásicas de recuperación de suelos y mucho más apropiadas para aplicarlas a grandes extensiones de suelos contaminados (Schnoor, 1997; USEPA, 2000).

El uso de enmiendas que disminuyan o aumenten la solubilidad y la biodisponibilidad de los nutrientes y microelementos en los suelos, es una práctica tan antigua como la agricultura. Las enmiendas más comúnmente utilizadas son materiales calizos (aumentan el pH y disminuyen la movilidad de los elementos catiónicos), fosfatos (insolubilizan los elementos metálicos), óxidos de Fe y Mn (muy efectivos en la adsorción de elementos, especialmente aniónicos), materiales orgánicos (precipitan, complejan, disminuyen la toxicidad de los elementos traza), aluminosilicatos (gran capacidad de adsorción), etc. La adición de enmiendas cumple además la función de restauración de las propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos, cuando han sido alteradas por excavación y remoción de la capa superficial de los mismos, lo que tiene gran importancia para restablecer la fertilidad del suelo (Brown, 1997; Mench et al., 1998).

En los últimos años se ha prestado especial atención a la **fito-extracción**, basada en el uso de plantas hiperacumuladoras para extraer elementos traza de los suelos y acumularlos en la parte aérea, lo que posibilita la remoción de los elementos traza extraídos del suelo. El resultado final es la disminución del contenido de elementos traza contaminantes en el suelo. Para la aplicación de esta técnica, también denominada Recuperación Verde (Green Remediation), se necesita una planta hipe-

racumuladora, que produzca una biomasa apreciable, que sea fácil de cultivar y cosechar y que sea tolerante a condiciones climáticas más o menos extremas. Por el momento, esta técnica no ha dado los resultados que cabrían esperarse debido a que muy pocas plantas reúnen las condiciones necesarias para que la extracción sea efectiva (Brooks, 1997; Greger, 2003). También se está prestando mucha atención a la **fito-estabilización** y la **fito-inmovilización**, en muchos casos en combinación con la aplicación de enmiendas. Estas técnicas reducen la biodisponibilidad y la movilidad de los elementos traza en el suelo, ofreciendo una alternativa a la difícil extracción de los elementos traza del suelo (Vangronsveld y Cunningham, 1998; Van Cauwenberghe y Roote, 1998).

La filosofía de estabilizar en vez de extraer, concuerda con la tendencia actual, presentada en distintos foros internacionales (ICOBTE, 2001, 2003), que recomienda aprovechar los procesos naturales que tienden a inmovilizar y disminuir la toxicidad de los elementos traza en los suelos, lo que se denomina **Natural remediation/ Natural attenuation NR/NA (Recuperación natural/Atenuación natural)**, o **Assisted remediation/ Assisted attenuation AR/AA (Recuperación asistida/Atenuación asistida)**, consistente, esta última, en la aceleración de los procesos naturales de inmovilización, mediante la aplicación de enmiendas y la utilización de plantas (Adriano et al, 2002, 2004).

Sin duda, los suelos afectados por el vertido tóxico de Aznalcóllar, constituyen un excelente banco de pruebas para los estudios de recuperación.

## CONTAMINACIÓN DE LOS SUELOS DE LOS VALLES DE LOS RÍOS AGRIO Y GUADAMAR

El accidente de Aznalcóllar (Grimalt et al., 1999), en el que se vertieron 2 hm<sup>3</sup> de lodos pirríticos y 4 hm<sup>3</sup> de aguas ácidas, dejó una franja de unos 300 m a cada margen de los ríos Agrio y Guadamar cubierta por una capa de lodo de espesor variable – 2-30 cm en el 79% de la superficie afectada (López Pamo et al., 1999). La superficie afectada fue de 4386 ha, de las cuales, 2710 ha correspondieron a superficie cubierta por lodo y las restantes, a zonas afectadas por las aguas ácidas (Cabrera, 2000; Consejería de Medio Ambiente, 1999a).

Los suelos afectados por el vertido mostraron, en la capa 0-50 cm, concentraciones de As, Bi, Cd, Cu, Pb, Sb, Tl y Zn más altas que los valores de fondo geoquímico de la zona (Cabrera et al., 1999; López Pamo et al., 1999; Simón et al., 1999) (Tabla 1). En la mayoría de estos suelos la contaminación era severa en los primeros 20 cm, decreciendo en profundidad. En general, en los suelos en los que la fracción arcilla era > 25%, la contaminación no penetraba por debajo de los primeros 10-20 cm (Cabrera et al., 1999).

Dichos suelos pertenecen en la actualidad al Corredor Verde del Guadamar, un proyecto de gestión integrada de cuenca, cuyo principal objetivo es evitar la dispersión de los contaminantes y eliminar la contaminación. Para ello, los suelos se sometieron a un programa de recuperación consistente en: a) la remoción, tanto de los lodos depositados sobre ellos, como la de una capa superficial de suelo de 5 a 20 cm de espesor. Con la pérdida de esta capa superficial, los suelos perdieron gran parte de su contenido en materia orgánica, repercutiendo negativamente en las propiedades físicas, químicas y biológicas de los mismos; b) la adición de materiales ricos en carbonato cálcico (espuma de azucarera y cenizas de pasta de celulosa, 20-40



Tabla 1. Concentración total ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de metales pesados y otros elementos traza en suelos (0-50 cm) del río Guadamar, en comparación con valores en suelos normales y valores considerados tóxicos para el crecimiento de las plantas.

Elemento	Suelos no afectados <sup>§</sup>		Suelos afectados <sup>§</sup>		Suelos normales *	Concentración considerada tóxica **
	media	intervalo	media	intervalo	mediana	intervalo
<b>As</b>	18,9	8,37-38,5	80,4	9,38-1684	6	20
<b>Bi</b>	0,49	0,24-1,17	1,80	0,31-33,4	0,2	-
<b>Cd</b>	0,33	0,12-1,06	1,69	0,12-22,0	0,35	3-8
<b>Cu</b>	30,9	12,3-85,0	104	12,5-958	30	60-125
<b>Pb</b>	38,2	19,5-86,3	234	25,3-4969	35	100-400
<b>Sb</b>	1,80	0,71-3,31	13,7	0,89-323	1	5-10
<b>Tl</b>	0,70	0,37-2,77	2,11	0,40-30,3	0,2	1
<b>Zn</b>	109	53,9-271	487	56,8-5283	90	70-400

<sup>§</sup>Cabrera et al., 1999.

\*Bowen (1979).

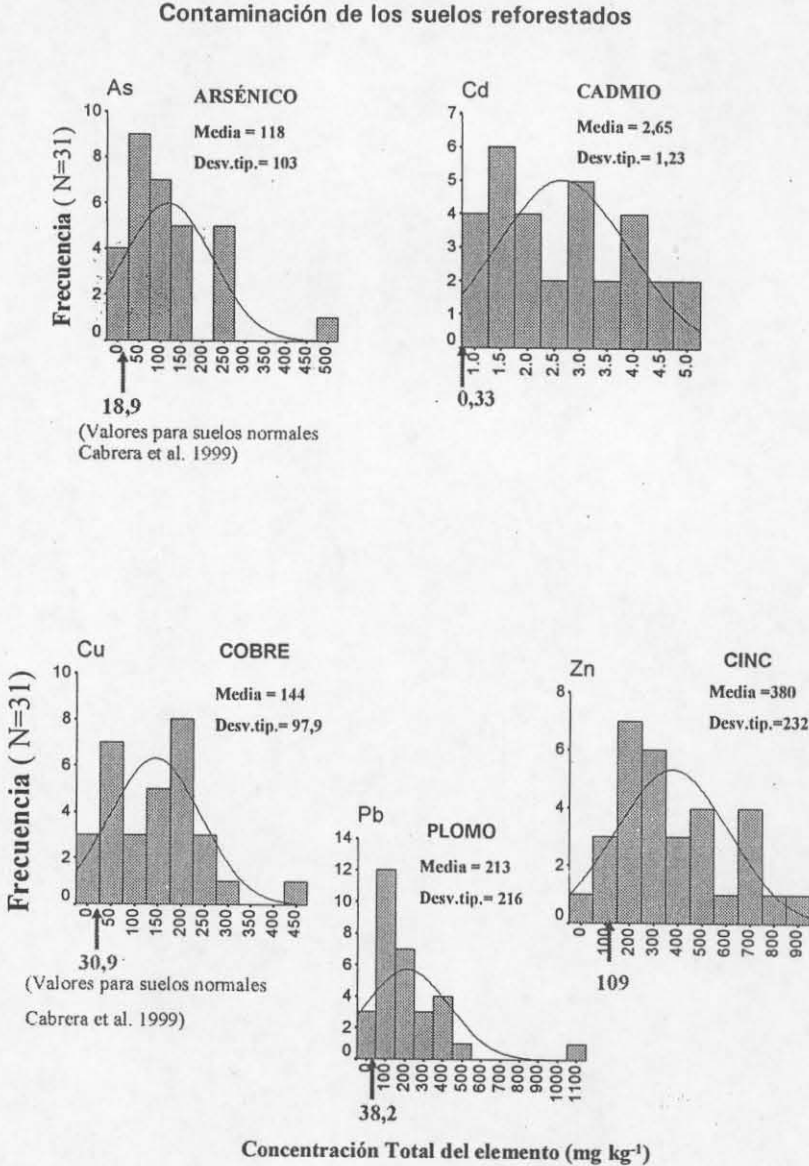
\*\*Kabata-Pendias and Pendias (1992); Ross (1994); Singh and Steiness (1994).

Tm/ha), con objeto de aumentar el pH y disminuir la movilidad de los elementos traza catiónicos; c) la adición de materiales ricos en óxidos de hierro para disminuir la movilidad y biodisponibilidad de los elementos traza aniónicos y d) la aplicación de materiales orgánicos (estiércol y compost, 20-25 Tm/h), cuyo primer objetivo fue el de reponer la materia orgánica de los suelos. En todos los casos se homogeneizó la capa superficial (20-25 cm) de los suelos, mediante una labor de grada. Posteriormente, se procedió a la revegetación de la zona afectada mediante distintas especies de plantas autóctonas (más de 3 millones de plantas), bien adaptadas a las condiciones locales y relativamente tolerantes a la contaminación (Consejería De Medio Ambiente, 1999a, b).

## ELEMENTOS TRAZA EN LOS SUELOS RECUPERADOS

Finalizadas las operaciones de retirada del lodo, se siguieron detectando altos niveles de contaminación. En un estudio realizado por el IGME en el que se dividió el área afectada en zonas "sucias" (en un 5% de la zona afectada la presencia de lodo era muy alta) y "limpias", se detectó, incluso en estas últimas, cierto nivel de contaminación residual (López Pamo et al., 2001). En las zonas limpias, se observó además una alta variabilidad espacial de las concentraciones de elementos traza, relacionada con la presencia de lodo remanente, lo que daba lugar a que en sólo unos metros, las concentraciones variaran en varios órdenes de magnitud. Moreno et al. (2001) pusieron también de manifiesto esta circunstancia, atribuyéndola a que durante la limpieza quedaron restos de lodo, los cuales durante las mismas labores de limpieza, o en las posteriores de aplicación de enmiendas, quedaron enterradas y heterogéneamente distribuidas bajo la superficie de los suelos. Según López Pamo et al. (2001) en la capa 0-10 cm, los valores medios de Zn, Pb, As y Cu fueron entre 3 y 6 veces mayores, según el elemento ( $\text{Zn} > \text{Pb} > \text{As} > \text{Cu}$ ), que los valores del fondo geológico. En general, en el cuartil superior de cada población se superaban los límites establecidos para suelos contaminados. La transgresión de estos límites seguía la tendencia  $\text{Cu} < \text{Zn} < \text{Pb} < \text{As}$ , encontrándose valores especialmente altos en el caso del As ( $> 700 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Asimismo, dichos autores observaron que las concentraciones disminuían en profundidad, especialmente las de As y Pb.

En el IRNAS se han desarrollado una serie de estudios para establecer la relación suelo-planta en los suelos del valle del Guadiamar (Madejón, 2004; Madejón et al., 2001, 2002, 2003, 2004, 2005b, Marañón et al. 2003, Murillo et al., 2005). Por ejemplo, Marañón et al. (2003) pusieron de manifiesto que la mayor parte de los suelos en la zona reforestada tenían concentraciones de As, Cd, Cu, Pb y Zn mayores que las de suelos del valle del Guadiamar no afectados por el vertido (Figura 1).



**Figura 1. Contaminación de los suelos limpios reforestados. Concentraciones totales de elementos traza. Comparación con los valores existentes antes del vertido (Cabrera et al., 1999).**

Moreno et al. (2001), Sierra et al. (2003) y Cabrera et al. (2005), entre otros, observaron que en muchos casos, las concentraciones de elementos traza en la capa superficial de los suelos “limpios” son superiores a las que tenían antes de la limpieza (Tabla 2). Atribuyeron ese aumento a las pequeñas cantidades de lodo enterradas,

ya que el lodo tiene altas concentraciones de elementos traza: As 4692 mg kg<sup>-1</sup>, Cd 33 mg kg<sup>-1</sup>, Cu 1323 mg kg<sup>-1</sup>, Pb 8091 mg kg<sup>-1</sup>, Zn 8832 mg kg<sup>-1</sup> (López Pamo et al. 1999).

**Tabla 2. Valores medios de elementos traza y S en suelos limpios. Comparación con valores medios antes de la limpieza y con los valores de fondo geoquímico.**

prof. cm		CaCO <sub>3</sub> %	pH	As	Cd	Cu	Pb	Zn	S
<b>Typic Xerochrept</b>									
0-20	media	< LD	4.5	161	1.32	111	367	351	8712
	ds		1.1	257	1.41	82.7	566	299	16071
20-40	media	< LD	5.1	229	1.76	119	533	350	10332
	ds		1.0	648	4.09	218	1510	788	32068
<b>Calcixc rollic Xerochrept</b>									
0-20	media	12.5	7.5	25.7	0.42	25.9	73.5	129	1458
	ds	4.8	0.1	23.2	0.21	13.5	2.8	59.9	1421
20-40	media	12.1	7.6	12.4	0.26	19.8	11.4	82.9	684
	ds	5.6	0.1	8.4	0.05	8.5	2.5	13.5	782
<b>Valores medios antes de la limpieza</b>									
0-20				31.8	1.02	68.1	118	310	
20-40				18.1	0.24	22.5	47.2	75.5	
Fondo geoquímico Soberbites				9.8	0.18	16.7	23.1	63.4	
Fondo geoquímico Guadamar				18.9	0.33	30.9	38.2	109	

LD, límite de detección

Según Aguilar et al. (2004), como resultado de las distintas medidas de recuperación, en la mayoría de las muestras estudiadas, el contenido total de Cu, Zn, Cd y Pb en los primeros 10 cm de los suelos no sobrepasó los niveles permitidos para áreas naturales (Tabla 3). Las concentraciones de As, en cambio, superaron el nivel permitido 100 mg kg<sup>-1</sup> en más del 50% de las muestras. Cabe destacar que los niveles permitidos (Aguilar et al., 1999) son mucho mayores que los del fondo geoquímico (Cabrera et al. 1999): 5,4 veces para el As, 45 para el Cd, 16 para el Cu, 26 para el Pb y 92 para el Zn (Tabla 3), por lo que los resultados de Aguilar et al. (2004) parecen indicar algo más que “un alto nivel de contaminación de As”.

**Tabla 3. Concentraciones de los límites de intervención según uso del suelo y valores medios antes del vertido (valores de fondo geoquímico).**

	Zonas menos sensibles*	Zonas sensibles*	Valores medios antes del vertido**
	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>	mg kg <sup>-1</sup>
As	100	52	18,9
Cd	10	5	0,33
Cu	500	250	30,9
Pb	500	350	38,2
Zn	1200	700	109

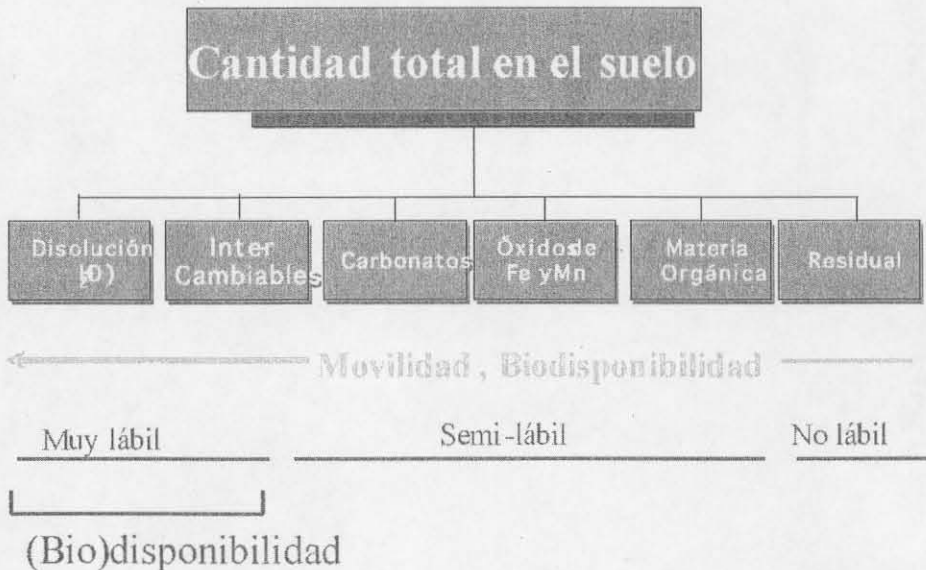
\* Aguilar et al. (1999)

\*\* Cabrera et al. (1999)

En la nomenclatura anglosajona existe la palabra "contamination" para expresar la desviación del valor de fondo sin efectos perjudiciales para los organismos y "pollution" cuando además se detectan efectos perjudiciales para el suelo, el medio o los organismos. Desgraciadamente, los propios autores anglosajones confunden a veces ambos términos y en castellano tampoco lo tenemos claro, a pesar de que existen los términos contaminación y polución, con significados parecidos a los anglosajones. Si adoptamos esas definiciones podríamos decir, de momento, que después de la limpieza, los suelos afectados por el vertido están contaminados. Si además existe polución o no, no se puede deducir directamente de los valores totales, sino de la biodisponibilidad para los organismos y de su interacción con el entorno.

Una definición bastante general de biodisponibilidad sería: aquella fracción de masa total de un componente de un suelo o sedimento, que puede ser tomada por los organismos. Para que una sustancia esté biodisponible para las plantas (fitodisponible), tiene que estar en contacto con las raíces, ser móvil y estar en una forma accesible para las mismas. En los suelos, sólo una pequeña fracción del contenido total de un elemento traza, es fitodisponible, por lo que su determinación es tanto o más importante que la de su contenido total. La fitodisponibilidad de un determinado elemento traza en un suelo depende de factores del propio suelo (pH, potencial redox, textura, materia orgánica, composición mineral, régimen hídrico) y de la propia planta. Con respecto a la composición del suelo, en la Figura 2 que muestra la secuencia de movilidad y disponibilidad, puede observarse que la fracción biodisponible está constituida fundamentalmente por las fracciones del elemento soluble e intercambiable (existente en los sitios de intercambio catiónico o aniónico de los componentes del suelo). Una buena estimación de la disponibilidad será la especiación: proceso y cuantificación de las distintas especies, formas o fases en que se encuentra un elemento traza en el suelo (Figura 2). Sin embargo, los métodos de

### Secuencia de movilidad/ biodisponibilidad



**Figura 2. Especiación de los elementos traza en el suelo. Secuencia de movilidad/biodisponibilidad.**



especiación, basados en la extracción secuencial con distintos extractantes, además de tediosos, tienen ciertos inconvenientes como son la no total especificidad de los extractantes (lo que origina contaminación entre las distintas fracciones), la necesidad de métodos analíticos con alto grado de sensibilidad, etc. (Adriano et al., 2004). Existen además métodos consistentes en una simple extracción con ácidos, con agentes quelantes o con disoluciones salinas, tamponadas o sin tamponar, para estimar la fitodisponibilidad. Estos métodos intentan diluir la disolución del suelo, extraer los elementos intercambiables e imitar la acción de los exudados de las raíces implicados en los mecanismos de importación de la planta. El método ideal sería aquel que reaccionase suavemente con los componentes del suelo y cuyos resultados estuvieran correlacionados con las cantidades de elementos traza tomados por la mayoría de las plantas. Sin embargo, las plantas no siempre toman un nutriente o contaminante proporcionalmente a la cantidad estimada por esos métodos (indicadoras), ya que pueden tener mecanismos tanto para la importación de nutrientes y contaminantes, incluso cuando están en concentraciones muy bajas en los suelos (acumuladoras), como para excluirlos (excluseras), incluso cuando la concentración externa es muy alta (Kabata-Pendias (2004).

Aguilar et al. (2004) han determinado la movilidad de As, Cd, Cu, Pb y Zn en los suelos "limpios" del Guadiamar mediante medidas en la pasta saturada de los suelos previamente tratados con  $\text{HNO}_3$ , encontrando que la movilidad de estos elementos había disminuido a lo largo del tiempo, pero que en el último muestreo realizado en 2001, en el 19% de la superficie de suelos ácidos, las concentraciones de As sobrepasaban el nivel máximo permitido (As  $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$ ), en el 13% se sobrepasaba el de

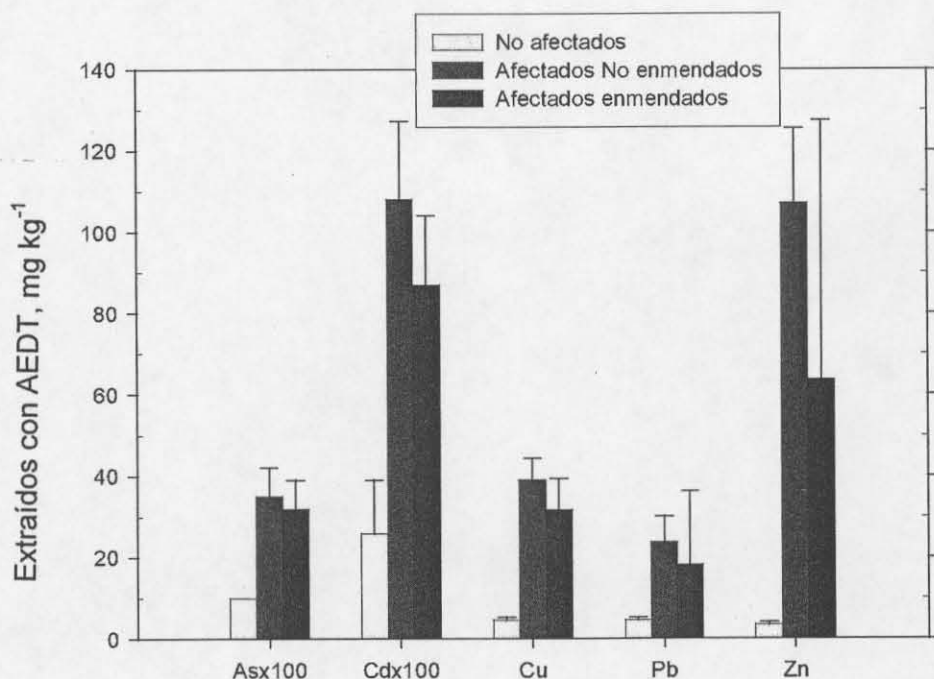


Figura 3. Comparación de las concentraciones de los elementos traza extraídos con AEDT, en suelos no afectados, afectados no enmendados y afectados enmendados (Madejón et al., 2005).



Cd ( $0,03 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y Cu ( $0,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y en el 28% el de Zn ( $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Asimismo, el nivel permitido de As se sobrepasaba en el 10% de los suelos neutros y alcalinos. Los mismos autores informan en el citado artículo que las formas biodisponibles (extraídas con AEDT) de As superaban los  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  en el 30-40% de los sectores de suelos ácidos sin carbonatos y que las de Zn superaban los  $150 \text{ mg kg}^{-1}$  en el 50% de los suelos con pH 8, con más del 10% de  $\text{CaCO}_3$  y textura arcillo limosa.

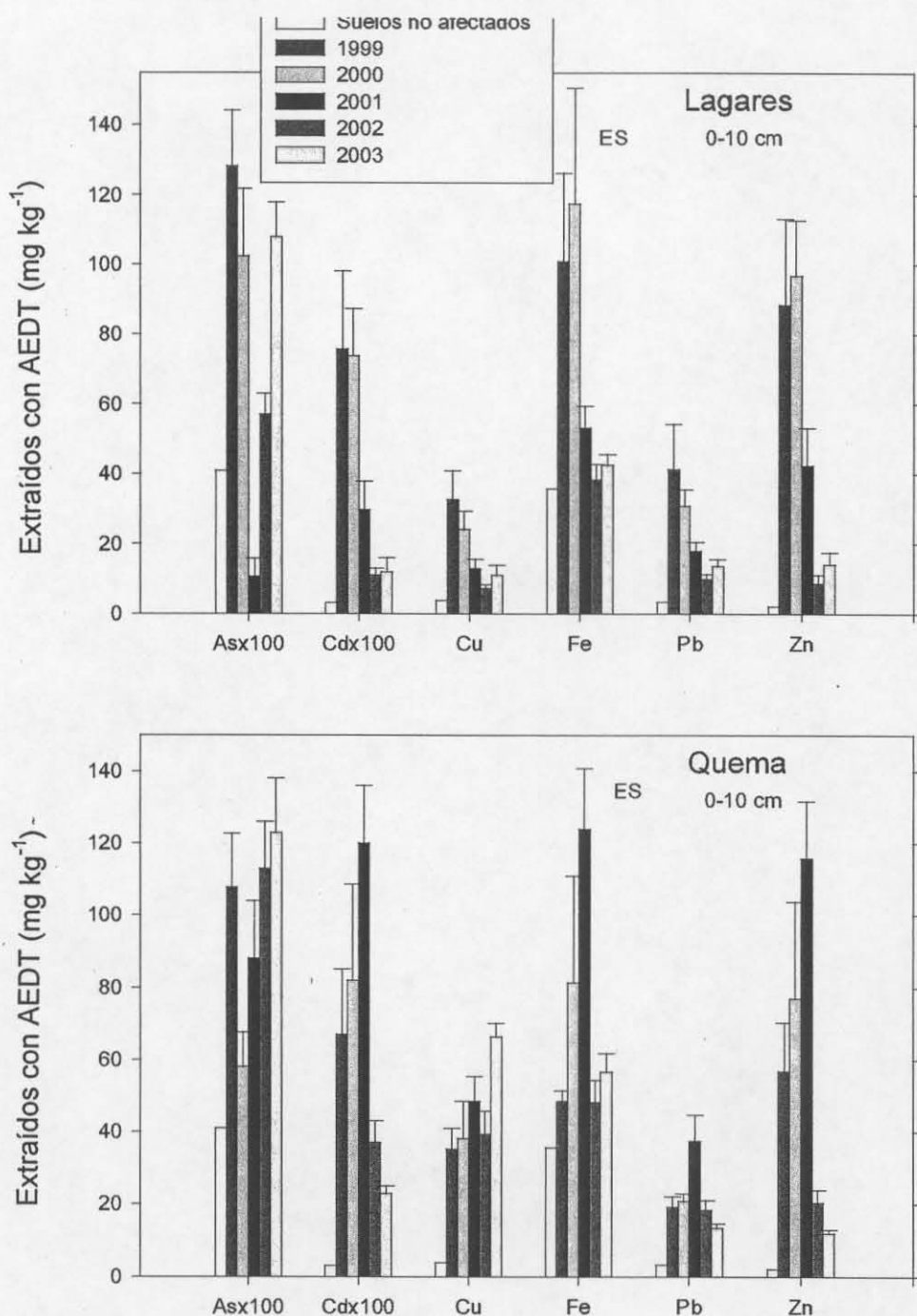
En los trabajos llevados a cabo en el IRNAS (Madejón, 2004; Madejón et al., 2001, 2002, 2003, 2004, 2005b; Marañón et al. 2003, Moreno et al., 2001; Murillo et al., 2005) se observó que las concentraciones de elementos traza disponibles (extraídos con AEDT) en los suelos afectados "limpios" eran siempre muy superiores a las de los suelos no afectados, aunque inferiores a la de los suelos no enmendados (Figura 3). Asimismo, se observó en muestreos realizados desde 1999 a 2003, que las concentraciones de Cd, Cu, Fe, Pb y Zn disponibles no disminuían hasta 2002 (Figura 4), cuando en la zona de suelos afectados había cesado todo tipo de actividad (limpieza, enmienda, repoblación, etc.), en cambio las de As aumentaban precisamente en ese período (Cabrera et al., datos no publicados).

Las labores de recuperación también afectaron positivamente a las tasas microbiológicas de mineralización neta, nitrificación neta y respiración basal y a las actividades enzimáticas de los suelos recuperados. Hinojosa et al. (2004) encontraron que en general, tanto dichas tasas microbiológicas, como las actividades enzimáticas, aumentaron respecto a los suelos no recuperados, si bien los valores quedaban muy por debajo de los correspondientes a los suelos no afectados por el vertido.

## ELEMENTOS TRAZA EN LA VEGETACIÓN DE LOS SUELOS RECUPERADOS

Los estudios llevados a cabo en gramíneas espontáneas y árboles y arbustos implantados en el corredor verde, han revelado que a pesar de que la concentración de elementos traza en el suelo era generalmente superior a la considerada fitotóxica, y de los altos valores de elementos traza extraídos con AEDT, la contaminación parece estar estabilizada, ya que las concentraciones de elementos traza en las hojas de las diferentes especies son bastante bajas.

Durante el período 1999-2001 se estudió la acumulación de elementos traza en la parte aérea de dos gramíneas espontáneas, grama (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) y sorgo (*Sorghum halepense* (L.) Pers.), recolectadas en suelos afectados "limpios" de la vega del Guadiamar, en suelos no afectados, así como en una parcela testigo en la cual no se retiraron los lodos (Madejón et al. 2001, 2002; Marañón et al., 2003) (Fotografía 1). En general, los resultados mostraron que en las plantas de los suelos afectados "limpios" las concentraciones medias de estos elementos eran algo superiores a las de los no afectados, pero muy inferiores a las de las plantas de la parcela con lodo. En los suelos "limpios" únicamente en 1999 se encontraron concentraciones medias que superaban el intervalo de niveles fitotóxicos en el caso del As. Las concentraciones medias de todos los elementos estudiados, a excepción del Cd, decrecieron durante el período de estudio y en 2001 estaban por debajo del umbral tóxico para el consumo por el ganado ovino (Chaney, 1989). En la Figura 5, que muestra la dinámica de la evolución de las concentraciones de As, Cd, Cu y Pb en grama (Marañón et al., 2003), se puede observar que los valores medios de Cd y algunos valores individuales de Cu superan el umbral de toxicidad para el ganado.



**Figura 4. Evolución de las concentraciones de elementos traza extraídos con AEDT (Cabrera et al., datos no publicados).**

Asimismo, en los estudios efectuados para determinar la acumulación de elementos traza en las especies arbustivas y arbóreas implantadas, se observaron concentraciones consideradas fitotóxicas de Cd ( $> 5 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y Zn ( $> 100 \text{ mg kg}^{-1}$ ) en hojas de pimpollos de sauce, especie acumuladora de esos elementos. También en hojas de álamo, romero, madroño, adelfa, retama y labiérnago se alcanzaron concentraciones  $> 100 \text{ mg kg}^{-1}$  de Zn, superándose este valor de manera destacada en las hojas de álamo y sauce (Figura 6) (Marañón et al., 2003; Murillo et al., 2005).

Es posible que las enmiendas aplicadas para restaurar los suelos del valle del Guadiamar, así como la dinámica natural de los elementos traza en los suelos, por la que éstos tienden a quedar retenidos en los mismos, contribuyan a la aparentemente baja movilización de esos elementos, reflejándose este hecho en la escasa importación por las plantas. Hay que tener también en cuenta la distinta respuesta de las diferentes especies, la mayoría de las cuales son exclusoras, evitando el transporte de los elementos traza desde la raíces a la parte aérea.

**EFFECTOS DE LA RECUPERACIÓN NATURAL ASISTIDA EN EL SUELO**

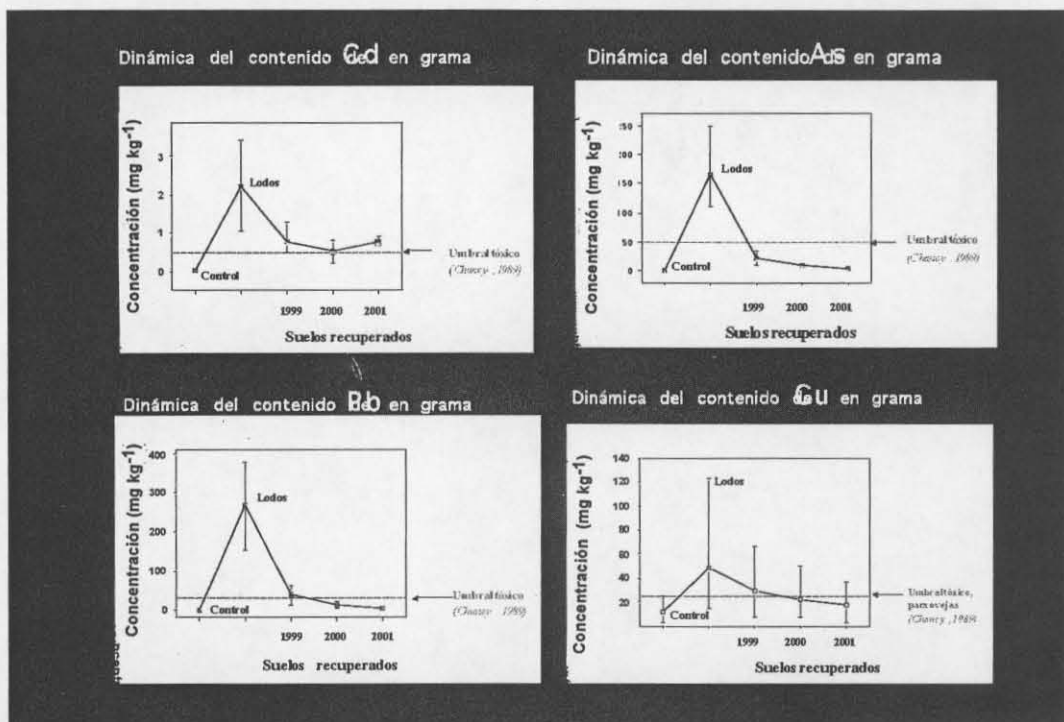


Figura 5. Dinámica de la evolución de las concentraciones de As, Cd, Cu y Pb en grama (Marañón et al., 2003).

**Concentración de elementos traza en hojas**

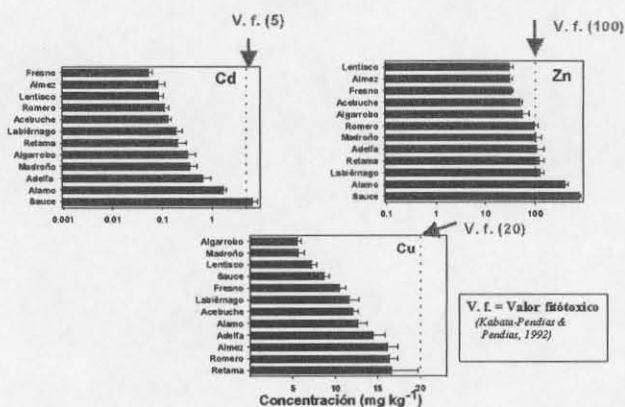


Figura 6. Concentraciones de Cd, Cu y Zn en hojas de especies arbustivas y arbóreas implantadas en el corredor verde del río Guadiamar (Marañón et al., 2003).

Los cambios en las propiedades químicas, bioquímicas y microbiológicas de los suelos contaminados con elementos traza han sido estudiados en condiciones controladas: experimentos en condiciones de semi-campo, consistentes en contenedores de 70 x 60 x 50 cm rellenos con un suelo contaminado, e instalados al aire libre (Fotografía 2). El suelo fue tomado en una parcela del corredor verde del Guadiamar, en la Finca el Vicario, en la margen derecha del río Guadiamar, a 10 km de la mina de Aznalcóllar. En dichos contenedores ha sido posible hacer un seguimiento de lo que le ocurre al suelo cuando se le aplican distintas enmiendas (compost de residuos sólidos urbanos (MWC), compost de biosólidos (BC), leonardita (LEO), hojarasca de bosque (LIT) y espuma de azucarera (SL)) y se establece una cubierta vegetal con *Agrostis stolonifera* L. (Pérez de Mora et al., 2005 a,b,c). En un experimento de tres años en el que se aplicaron dosis de enmiendas equivalentes a 100, 50 y 0 Tm ha<sup>-1</sup> en el primer, segundo y tercer año respectivamente, se observaron aumentos del pH del suelo, que en general se hicieron más importantes a lo largo del tiempo, incluso en los tratamientos control (CTR, sin enmienda; CTRP, sin enmienda y con cubierta vegetal). En el caso de la espuma de azucarera, el aumento de pH se debe al alto contenido de CaCO<sub>3</sub> (70-80%), mientras que en el caso de los composts, se atribuye a su elevado contenido de cationes básicos. En el resto de los tratamientos, los aumentos del pH se deben a la atenuación natural que se potencia con la cubierta vegetal (Figura 7).

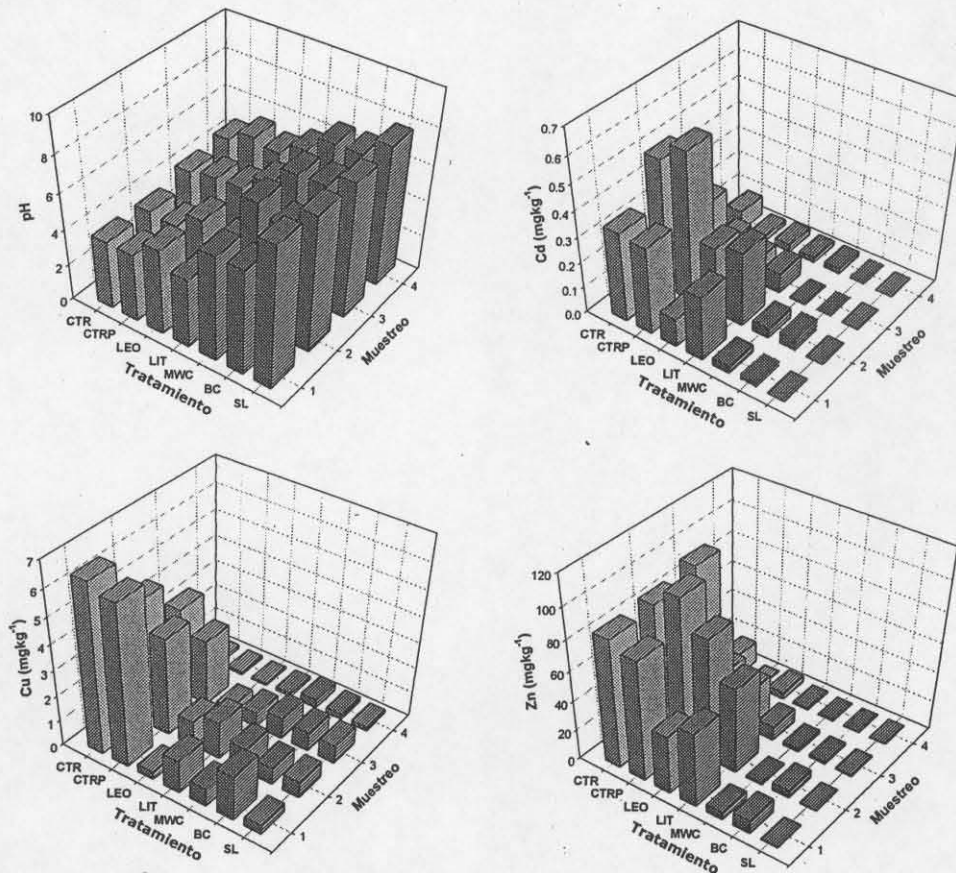


Figura 7. Evolución del pH y las concentraciones de Cd, Cu y Zn solubles en CaCl<sub>2</sub> en suelos tratados con distintas enmiendas: CRT, control; CTRP, control con planta; LEO, leonardita; LIT, hojarasca; MWC, compost sólidos urbanos, BC, compost de biosólidos; SL, espuma azucarera.



En los suelos enmendados se observó también un notable aumento del carbono orgánico total (TOC), especialmente en los tratados con enmiendas orgánicas, en los que el aumento fue dos veces mayor que cuando se aplicó espuma de azucarera. En cambio, las diferencias en las concentraciones de carbono orgánico soluble encontradas entre los distintos tratamientos, no fueron tan grandes, e incluso en el control con cubierta vegetal los valores fueron más altos que en el control sin cubierta vegetal, lo que induce a pensar que parte del carbono orgánico soluble se debe a la presencia de un sistema radicular que produce exudados. La presencia de materia orgánica es crucial para la calidad del suelo y la regulación de numerosos procesos en el mismo. Desde el punto de vista de la regeneración de estos suelos, la materia orgánica juega un papel muy importante porque además de promover el aumento de la actividad microbiana, puede adsorber y formar complejos con los elementos traza, disminuyendo su toxicidad y disminuyendo o aumentando su movilidad.

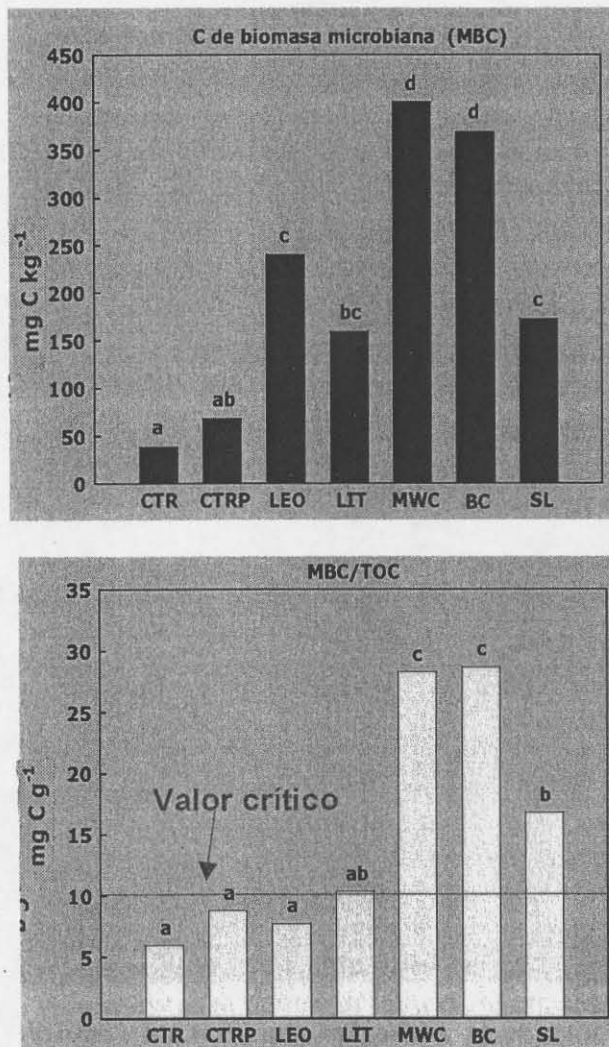


Figura 8. Valores de C de biomasa microbiana y de la relación MBC/TOC (Biomasa microbiana/Carbono orgánico total) en suelos con diferentes enmiendas: CRT, control; CRTP, control con planta; LEO, leonardita; LIT, hojarasca; MWC, compost sólidos urbanos, BC, compost de biosólidos; SL, espuma azucarera (Pérez de Mora et al., 2005ab).

En general, las concentraciones de elementos traza solubles en  $\text{CaCl}_2$  (fracción más disponible para microorganismos y plantas) y las lixiviadas fueron muy bajas (en el caso del As y Pb por debajo de los límites de detección de la técnica analítica,  $0,02 \text{ mg l}^{-1}$ ), especialmente en los suelos enmendados, y decrecieron a lo largo del experimento (Figura 7). Este descenso de la solubilidad está correlacionado con el aumento del pH.

Se observaron también cambios muy positivos en las propiedades bioquímicas y microbiológicas del suelo (Figura 8 y 9). Así por ejemplo, el contenido de car-

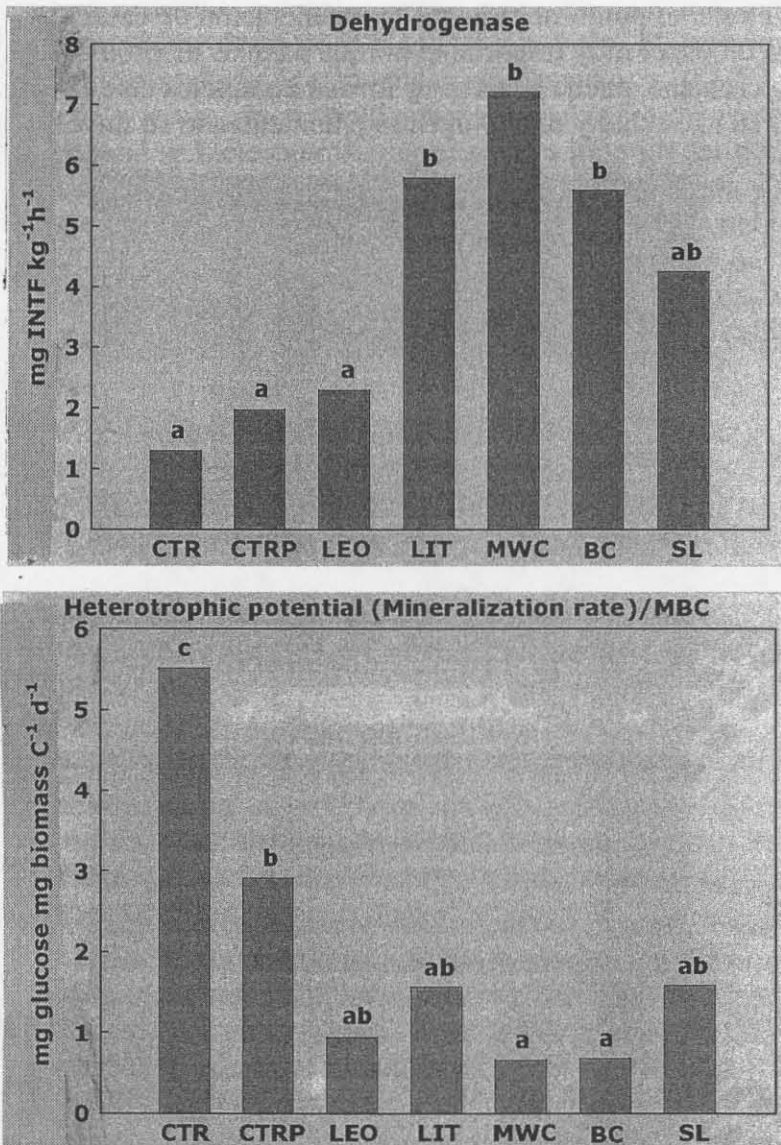


Figura 9. Valores de la actividad enzimática deshidrogenasa y de la relación HT/MBC (Potencial heterotrófico/biomasa microbiana) en suelos con diferentes enmiendas: CRT, control; CRTP, control con planta; LEO, leonardita; LIT, hojarasca; MWC, compost sólidos urbanos, BC, compost de biosólidos; SL, espuma azucarera (Pérez de Mora et al., 2005ab).

bono de la masa microbiana (MBC) fue siempre superior en los suelos enmendados, y en especial en los enmendados con compost (Figura 8). La relación MBC/TOC es un índice muy útil para determinar la contaminación por elementos traza y puede ser indicativo de los cambios en la materia orgánica del suelo (Brookes, 1995; Insam y Merschack, 1997). En los suelos enmendados con compost y espuma de azucarera, los valores de este índice son  $> 10 \text{ mg g}^{-1}$  (Gigliotti y Farini, 2002); los valores  $< 10 \text{ mg g}^{-1}$  son indicativos de stress (Figura 8). Todas las enmiendas, y en especial MWC, BC y SL, aumentaron los valores de las actividades enzimáticas deshidrogenasa (utilizada como índice de fertilidad del suelo o de la actividad microbiana) y arisulfatasa (implicada en el ciclo del S) respecto al control (Figura 9). Ambas enzimas se consideran como indicadores de la toxicidad por elementos traza en el suelo.

Otro parámetro empleado fue la relación entre el potencial heterotrófico microbiano (HP, velocidad con que se mineraliza un sustrato añadido a un suelo) y la MBC, HP/MBC. Esta relación mide la eficiencia de la incorporación de carbono fácilmente asimilable (por ejemplo glucosa) a las estructuras microbianas y se utiliza como índice de stress. Altos valores de HP/MBC indican baja eficiencia. En la Figura 9 se observa que los valores más bajos corresponden a los suelos enmendados, indicando una recuperación o atenuación de la contaminación respecto al suelo control. Es destacable que en el tratamiento CRTP, que no es más que un control con plantas, el valor de HP/MBC es casi la mitad del correspondiente al control sin plantas (CRT), lo que indica que en CRTP se ha producido, al final del período experimental, una recuperación del suelo debida probablemente a la actividad en la zona radicular.

Mediante la técnica ADRA de huella genética (Molecular fingerprinting techniques), utilizada para determinar los efectos de los metales pesados y los contaminantes orgánicos sobre la comunidad microbiana de los suelos (Smit et al., 1997), se pudieron evaluar los efectos de las enmiendas y de la cubierta vegetal sobre los cambios en la estructura de dicha comunidad. Los resultados mostraron que las enmiendas aplicadas y la existencia de un sistema radicular produjeron cambios en la estructura de la comunidad de bacterias y de hongos. Esto tiene gran interés, ya que la población microbiana ejerce una gran influencia sobre la mayor parte de los procesos que ocurren en el suelo y, en consecuencia, puede afectar al desarrollo de los procesos de recuperación en suelos contaminados (Pérez de Mora et al., 2005a).

La producción de biomasa de *Agrostis* cambió a lo largo del experimento. Únicamente en la primera campaña, se obtuvieron en los suelos tratados pesos de materia seca muy superiores a los del control, excepto en el enmendado con hojarasca de bosque. En la segunda y tercera campaña las diferencias entre tratamientos disminuyeron, no encontrándose diferencias significativas entre ellos. Asimismo, en la primera campaña, sólo se encontraron anomalías en el contenido de elementos traza en la masa vegetal, en las concentraciones de As y Cu del control y del tratamiento con hojarasca, cuyos valores estaban dentro del intervalo considerado fitotóxico. Las anomalías desaparecieron en las otras dos campañas. Este comportamiento está relacionado con la estabilización de la contaminación (recuperación natural asistida), que ocurre incluso cuando no se aplica enmienda (recuperación natural), aunque con menor intensidad.

En experimentos de campo en condiciones reales, en la misma parcela de la finca el Vicario, de la que se tomó el suelo utilizado en los contenedores, y aplican-



do durante dos años algunas de las enmiendas anteriores (CB 30 Tm ha<sup>-1</sup>, SL 30 Tm ha<sup>-1</sup> y LEOSL 10 + 20 Tm ha<sup>-1</sup>), se observaron aumentos de pH y disminución de la concentración de elementos traza solubles (Tabla 4). Por otra parte, se observó que la colonización por especies espontáneas aumentaba en las parcelas tratadas, en las que aumentaba también, tanto el recubrimiento vegetal, como la producción de biomasa en las parcelas (Figura 10), disminuyendo la concentración de elementos traza en la parte aérea de las plantas, tal como se muestra en el ejemplo de la Figura 11 (Madejón et al., 2005a).

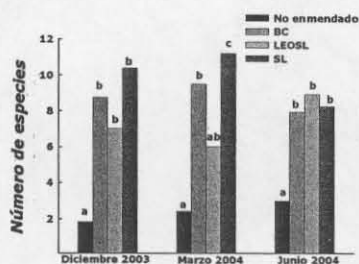
**Tabla 4. Valores de pH, de Carbono orgánico total (TOC) y Cd, Cu y Zn solubles en CaCl<sub>2</sub> 0,01 M. en suelos contaminados "limpios" de la finca el Vicario sometidos adistintas enmiendas. NE, sin enmienda; BC, compost de biosólidos; LEOSL, leonardita y espuma de azucarera; SL, espuma de azucarera)**

Variables	Tratamientos			
	NE	BC	LEOSL	SL
pH	3,19 a	4,67 bc	4,17 ab	6,01 c
TOC (%)	0,81 a	1,38 b	1,50 b	1,18 ab

#### Solubles (CaCl<sub>2</sub> 0,01M)

Cd (mg kg <sup>-1</sup> )	0,062 c	0,031 ab	0,047 bc	0,019 a
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	2,73 b	0,61 a	2,17 b	1,17 a
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	15,2 b	7,62 a	9,39 a	6,59 a

Valores seguidos por una misma letra, en una misma fila, no difieren significativamente.



#### Las enmiendas aumentan

- la colonización
- el recubrimiento
- la biomasa total

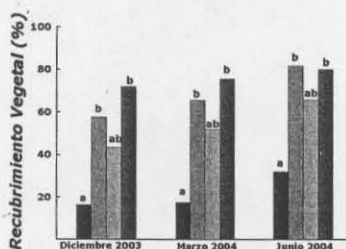
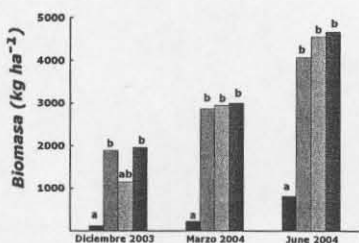


Figura 10. Evolución del número de especies, de la Biomasa vegetal y del Recubrimiento, en parcelas tratadas con distintas enmiendas: NE, sin enmienda; BC, compost de biosólidos; LEOSL, leonardita y espuma de azucarera; SL, espuma de azucarera (Madejón et al., 2005).



## CONCLUSIONES

La recuperación natural asistida es una técnica exitosa y fiable para la restauración de suelos contaminados con elementos traza a escala de campo, que necesita un mantenimiento mínimo y está basada fundamentalmente en la estabilización de dichos contaminantes mediante la aplicación de enmiendas y el establecimiento de una cubierta vegetal. La recuperación natural asistida estabiliza los elementos traza en los suelos, reduciendo su disponibilidad para las plantas, así como el riesgo de que éstos entren en la cadena trófica.

Los suelos del valle del Guadiamar afectados por el vertido tóxico de Aznalcóllar, sometidos a recuperación mediante la aplicación de enmiendas y reforestación, aun presentan concentraciones totales de elementos traza que indican altos niveles de contaminación. Sin embargo, diversos estudios realizados en dichos suelos han mostrado que la aplicación de enmiendas mejora las propiedades químicas, bioquímicas y microbiológicas de los suelos: 1) aumenta el pH de los suelos, los niveles de materia orgánica, los de las actividades enzimáticas deshidrogenasa y arilsulfatasa y la biomasa microbiana; 2) disminuye la concentración de elementos traza biodisponibles; 3) induce a cambios en la estructura de la comunidad microbiana; 4) favorece la colonización del suelo por especies espontáneas, que modifican el hábitat contaminado, mejorándolo para subsiguientes colonizaciones; 5) mejora el estado nutricional de la plantas, disminuyendo la transferencia de elementos traza del suelo a la parte aérea de las mismas, dificultando la incorporación de dichos elementos a la cadena trófica.

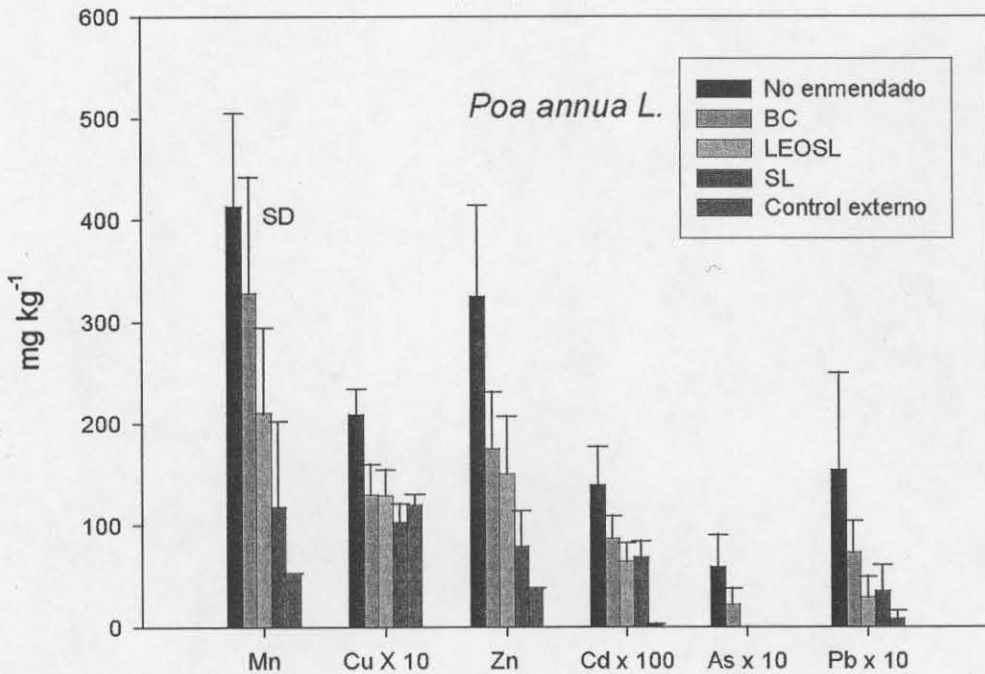


Figura 11. Concentración de elementos traza en tejido vegetal de *Poa annua L.* en parcelas tratadas con distintas enmiendas (ND, sin enmienda; BC, compost de biosólidos; LEOSL, leonardita y espuma de azucarera; SL, espuma de azucarera) y comparación con un control externo en un suelo no contaminado (Madejón et al., 2005).

La evolución a medio y largo plazo de los compuestos en los que se encuentran insolubilizados los elementos traza en los suelos, en especial los que forma con la materia orgánica, tiene gran importancia. La solubilidad de estos compuestos, dependiendo de las condiciones del medio, puede disminuir, favoreciendo la estabilización de los elementos traza, o aumentar y actuar como "bombas químicas de relojería". Por esta razón, es necesario un seguimiento del estado de los elementos traza en el suelo y el grado de adsorción de éstos por las plantas, para asegurar su estabilización, así como la evaluación de las dosis óptimas de aplicación y la frecuencia con la que deben realizarse las enmiendas.

## BIBLIOGRAFÍA

- ADRIANO DC, WENZEL WW, VANGRONSVELD J, BOLAN NS (2004). Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma* 122, 121-142.
- ADRIANO DC, BOLAN N S, KOO BJ, NAIDU R, LEILIE D, VANGROSVELD J, WENZEL WW (2002). Natural remediation processes: bioavailability interactions in contaminated soils. 17th World Congress of Soil Science, Thailand, Simposio 42, 502, 1-12.
- AGUILAR J, DORRONSORO C, FERNÁNDEZ E, FERNÁNDEZ J, GARCÍA I, MARTÍN F, SIMÓN M (2004). Soil pollution by a pyrite mine spill in Spain: evolution in time. *Environmental Pollution* 132, 395-401.
- BROOKES PC (1995). The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology and Fertility of Soils* 19, 269-279.
- BROOKS RR (1997). Plant hyperaccumulations of metals and their role in mineral exploration, archeology and land remediation. En: "Remediation of soils contaminated with metals" (Eds.: IK Iskandar y DC Adriano). Cap. 8, 123-133. Science Reviews, Northwood.
- BROWN KW (1997). Decontamination of polluted soils. En: "Remediation of soils contaminated with metals". (Eds.: IK Iskandar y DC Adriano). Cap. 3, 47-66. Science Reviews, Northwood.
- CABRERA F (2000). La contaminación por metales pesados en el valle del Guadiamar tras el vertido de Aznalcóllar. *Retema* 74, 37-48.
- CABRERA F, CLEMENTE L, DÍAZ BARRIENTOS E, LÓPEZ R, MURILLO JM (1999). Heavy metal pollution of soils affected by Guadiamar toxic flood. *The Science of the Total Environment* 242, 117-129.
- CHANEY RL (1989). Toxic element accumulation in soils and crops: protecting soil fertility and agricultural food-chains. En: "Inorganic Contaminants in the Vadose Zone". (Eds. B Bar-Yosef, NJ Barrow y J Goldshmid). Págs.: 140-158. Springer-Verlag, Berlín.
- CONSEJERÍA DE MEDIO AMBIENTE. (1999a) Balance de Actuaciones para la Corrección de los Efectos del Vertido Minero de Aznalcóllar. Oficina Técnica para la Recuperación del Guadiamar. CD-ROM.
- CONSEJERÍA DE MEDIO AMBIENTE (1999b). La estrategia del Corredor Verde del Guadiamar. Junta de Andalucía, Sevilla.

- EVANKO CR, DZOMBAK DA (1997). Remediation of metal-contaminated soils and groundwater. Groundwater Remediation Technologies Analysis Center, Pittsburgh.
- GREGGER M (2003). Phytoremediation – Does It Work?. Proc. 7th Intern. Conf. on the Biogeochem. of Trace Elements; Uppsala'03.
- GIGLIOTTI C, FARINI F (2002). Microbial biomass response to heavy metals in the field. En: "Soil Mineral-Organic Matter-Microorganisms Interactions and Ecosystem Health". (Eds.: A Violante, PM Huang, JM Bollag y L Gianfreda). "Developments in Soil Science" Volume 28B, . 247-255. Elsevier Science B.V.
- GRIMALT JO, MACPHERSON E (Editors) (1999). The Environmental impact of the mine tailing accident in Aznalcóllar (special issue )The Science of the Total Environment 242, 1-337.
- ICOBTE (2001) 6th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. Guelph, Canadá.
- ICOBTE (2003) 7th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements. Uppsala, Suecia.
- INSAM H, MERSCHACK P (1997). Nitrogen leaching from forest soil cores after amending organic recycling products and fertilizers. Waste Management Research 15, 277-292.
- ISKANDAR K, ADRIANO DC (1997) Remediation of soils contaminated with metals – a review of current practices in USA. En: "Remediation of soils contaminated with metals". (Eds.: IK Iskandar y DC Adriano). Cap. 1, 1-26. Science Reviews, Northwood.
- KABATA-PENDIAS A, PENDIAS H (1992). Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Ratón.
- KABATA-PENDIAS A (2004). Soil-plant transfer of trace elements – an environmental issue. Geoderma 122, 143-149.
- LÓPEZ PAMO E, BARETTINO D, PACHECO A, ALONSO C (2001). Valoración geoquímica de los suelos de la vega del Guadiamar finalizada la actuación de retirada de lodos. Boletín Geológico y Minero 112, 189-197.
- LÓPEZ PAMO E, BARETTINO D, PACHECO A, ORTIZ C, ARRÁNZ G, GUMIEL JC, MARTÍNEZ PLEDEL B, APARICIO M, MONTOUTO O (1999). The extent of the Aznalcóllar pyrite sludge spill and its effects on soils. The Science of the Total Environment 242, 57-88.
- MADEJÓN E, PÉREZ DE MORA A, FELIPE E, BURGOS P, CABRERA F (2005a). Soil chemical properties and revegetation of a trace element contaminated soil after assisted natural remediation. Environmental Pollution (en prensa).
- MADEJÓN P (2004). Elementos traza y nutrientes en plantas y suelos afectados por el vertido minero de Aznalcóllar. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- MADEJÓN P, MURILLO JM, MARAÑÓN T, CABRERA F, LÓPEZ R (2001). Elementos traza en gramíneas afectadas por el vertido tóxico de las minas de Aznalcóllar. Investigación Agraria. Producción y Protección Vegetal 16, 429-446.
- MADEJÓN P, MURILLO JM, MARAÑÓN T, CABRERA F, LÓPEZ R (2002). Bioaccumulation of As, Cd, Cu, Fe and Pb in wild grasses affected by the Aznalcóllar mine spill (SW Spain). The Science of the Total Environment 290, 105-120.



- MADEJÓN P, MURILLO JM, MARAÑÓN T, CABRERA F, SORIANO MA (2003). Trace element and nutrient accumulation in sunflower plants two years after the Aznalcóllar mine spill. *The Science of the Total Environment* 307, 239-257.
- MADEJÓN P, MARAÑÓN T, MURILLO JM, ROBINSON B (2004). White poplar (*Populus alba*) as a biomonitor of trace elements in contaminated riparian forests. *Environmental Pollution* 132, 145-155.
- MADEJÓN P, MURILLO JM, MARAÑÓN T, CABRERA F (2005b). Bioaccumulation of trace elements in a wild grass three years after the Aznalcóllar mine spill (South Spain). *Environmental Monitoring and Assessment* (en prensa).
- MARAÑÓN T, MURILLO JM, MADEJÓN P (2003). Efectos del vertido en la vegetación natural de la zona afectada y situación actual de la vegetación implantada en el Corredor Verde. *Jornadas sobre la Restauración del río Guadiamar después del vertido minero de Aznalcóllar*.
- MENCH M, VANGRONSVELD J, LEPP NW, EDWARDS R (1998). Physico-chemical aspects and efficiency of trace element immobilization by soil amendments. En: "Metal-contaminated soils: In situ inactivation and phytoremediation". Cap. 9, 151-182. (Eds.: J Vangronsveld y SD Cunningham). Springer-Verlag and R.G. Landes, Georgetown, Texas, EEUU.
- MORENO F, CABRERA F, FERNÁNDEZ J E, GIRÓN IF (2001). Propiedades hidráulicas y concentración de metales pesados en los suelos y en las aguas de drenaje de dos zonas afectadas por el vertido. *Boletín Geológico y Minero* 112, 178-184.
- MURILLO JM, MADEJÓN E, MADEJÓN P, CABRERA F (2005). The response of wild olive to the addition of a fulvic acid-rich amendment to soils polluted by trace elements (SW Spain). *Journal of Arid Environments* 63, 284-303.
- PÉREZ DE MORA A, BURGOS P, MADEJÓN E, CABRERA F, JAECKEL P, SCHLOTTER M (2005a). Microbial community structure and function in a soil contaminated by heavy metals: effects of plant growth and different amendments. *Soil Biology & Biochemistry* (en prensa).
- PÉREZ DE MORA A, BURGOS P, ORTEGA-CALVO JJ, CABRERA F, MADEJÓN E (2005b). Microbial function after assisted natural remediation of a trace element polluted soil. 1st International Conference on Environmental Industrial and Applied Microbiology.
- PÉREZ DE MORA A, ORTEGA-CALVO JJ, CABRERA F, MADEJÓN E (2005c). Changes in enzyme activities and microbial biomass after "in situ" remediation of a heavy metal-contaminated soil. *Applied Soil Ecology* 28, 125-137.
- SCHNOOR JL (1997). Phytoremediation. Technology Evaluation Report. GWRTAC Series TE-98-01. Pittsburgh, PA.
- SIERRA J, MONTSERRAT G, MARTÍ E, GARAU MA, CRUAÑAS R (2003). Contamination levels remaining in Aznalcóllar spill-affected soils (Spain) following pyritic sludge removal. *Soil and Sediment Contamination* 12, 523-539.
- SIMÓN M, ORTIZ I, GARCÍA I, FERNÁNDEZ E, FERNÁNDEZ J, DORRONSORO C, AGUILAR J (1999). Pollution of soils by the toxic spill of a pyrite mine (Aznalcóllar, Spain). *The Science of the Total Environment* 242, 105-115.



- SMIT E, LEEFLANG P, WERNARS K (1997). Detection of shifts in microbial community structure and diversity in soil caused by copper contamination using amplified ribosomal DNA restriction analysis. *FEMS Microbiology Ecology* 23, 249-261.
- USEPA (1995). *Bioremediation of Hazardous Wastes: Research, Development, and Field Evaluations*. EPA/540/R-95/532. Office of Research and Development Washington DC.
- USEPA (1996). *A Citizen's Guide to Innovative Treatment Technologies for Contaminated Soils, Sludges, Sediments, and Debris*. Technology Fact Sheet. EPA 542-F-96-001. Technology Innovation Office.
- USEPA (1997a). *Technology alternatives for the remediation of soils contaminated with As, Cd, Cr, Hg, and Pb*. EPA/540/S-95/500. Office of Emergency and Remedial Response. Washington, DC 20460.
- USEPA (2000). *Introduction to phytoremediation*. EPA/600/H-99/107. National Risk Management Laboratory. Office of Research and Development. Cincinnati.
- VAN CAUWENBERGHE L, ROOTE DS (1998). *In Situ Bioremediation*. TO-98-01. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center. Pittsburgh.
- VANGRONSVELD J, CUNNINGHAM SD (1998). Introduction to the concepts. En "Metal-contaminated soils: In situ Inactivation and phytoremediation" (J Vangronsveld y SD Cunningham). Cap. 1, 1-15. R.G. Landes Co. Georgetown, TX.
- WENZEL WW, ADRIANO DC, SALT D, SMITH R (1999). Phytoremediation: a plant-microbe-based remediation system. En: "Bioremediation of contaminated soils". *Agronomy Monograph* No. 37. Cap. 18, 457-508. American Society of Agronomy. SSSA, Madison.