

# Bioindicadores de la calidad del suelo: herramienta metodológica para la evaluación de la eficacia de un proceso fitorremediador

C. Garbisu<sup>1</sup>, J.M. Becerril<sup>2</sup>, L. Epelde<sup>3</sup>, I. Alkorta<sup>4</sup>

(1) NEIKER-Tecnalia, c/Berreaga 1, E-48160 Derio.

(2) Dpto. Biología Vegetal y Ecología, Universidad del País Vasco, Apartado 644, E-48080 Bilbao.

(3) NEIKER-Tecnalia, c/Berreaga 1, E-48160 Derio.

(4) Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Universidad del País Vasco, Apartado 644, E-48080 Bilbao.

**Bioindicadores de la calidad del suelo: herramienta metodológica para la evaluación de la eficacia de un proceso fitorremediador.** La fitorremediación es una tecnología emergente que utiliza plantas y microorganismos asociados para descontaminar suelos, aire, sedimentos, y aguas. Esta fitotecnología se basa en la capacidad de algunas especies vegetales para tolerar, absorber, acumular y degradar compuestos contaminantes. El objetivo último de un proceso fitorremediador de suelos contaminados no debe ser solamente eliminar el contaminante sino sobre todo recuperar la calidad del suelo, entendida ésta como la capacidad de este recurso para realizar sus funciones de forma sostenible. Los indicadores biológicos de la calidad del suelo, en especial aquellos relacionados con la biomasa, actividad y biodiversidad de las comunidades microbianas, presentan un enorme potencial como herramienta monitorizadora de la eficacia de un proceso fitorremediador. Estos bioindicadores son de gran utilidad para evaluar el efecto que tienen los procesos fitoextractores de suelos contaminados con metales sobre la calidad del suelo.

Palabras clave: fitoextracción, fitorremediación, metales, salud del suelo

**Bioindicators of soil quality: methodological tool for the assessment of the efficiency of a phytoremediation process.** Phytoremediation is an emerging technology that uses plants and their associated microorganisms to depollute soils, air, sediments and waters. This phytotechnology is based on the capacity of some plant species to tolerate, absorb, accumulate and degrade pollutants. The ultimate goal of a phytoremediation process must be not only to remove the contaminant from the polluted soil but to restore soil quality, i.e. its capacity to function sustainably. Biological indicators of soil quality, especially those related to the biomass, activity and biodiversity of soil microbial communities, have great potential as monitoring tools for the assessment of the efficiency of a phytoremediation process. These bioindicators are particularly useful for the assessment of the effect of metal phytoextraction processes on soil quality.

Key words: phytoextraction, phytoremediation, metals, soil health

## Introducción

La supervivencia de nuestra sociedad está ligada de forma inextricable a la salud de nuestros suelos. Por desgracia, en las últimas décadas, este recurso se ha degradado rápidamente como consecuencia de una serie de amenazas derivadas de la actividad humana: (i) la erosión, (ii) la pérdida de materia orgánica, (iii) la contaminación, (iv) la impermeabilización o sellado (por la construcción de viviendas, carreteras y otras infraestructuras), (v) la compactación (derivada de la utilización de maquinaria pesada, la intensidad del pastoreo, etc.), (vi) la disminución de la biodiversidad, (vii) la salinización, (viii) las inundaciones y, finalmente, (ix) los deslizamientos de tierra.

En concreto, como resultado principalmente de las actividades industrial y agraria, en los últimos años, se ha liberado en nuestros suelos una notable cantidad de sustancias químicas contaminantes que están, hoy en día, seriamente afectando la

funcionalidad y sostenibilidad de este recurso, convirtiéndose así en un problema medioambiental de enorme repercusión para nuestra sociedad. No debemos olvidar que el suelo realiza numerosas [funciones](#) de vital importancia: producción de biomasa (alimentos, fibra y combustible), descomposición de la materia orgánica, reciclaje de los nutrientes, depuración del agua y regulación de la calidad del aire, destoxificación de contaminantes, sumidero de gases invernadero, hábitat para numerosos organismos, reservorio genético, depositario de herencia cultural, etc. Por ello, es esencial acometer con urgencia la remediación de los suelos contaminados para así garantizar la sostenibilidad de estos servicios que, de forma gratuita, nos provee el ecosistema suelo.

Hasta hace poco, las únicas tecnologías de descontaminación de suelos contaminados estaban basadas en técnicas físico-químicas. Estas técnicas, en general, tienen un alto coste económico, implican un elevado consumo de energía y, sobre todo, conllevan un impacto negativo, en ocasiones irreversible, sobre la integridad y funcionalidad del recurso suelo. A este respecto, en los últimos años, han surgido una serie de tecnologías biológicas de descontaminación de suelos contaminados entre las que se puede destacar la biorremediación, i.e. la utilización de organismos (especialmente, microorganismos) para degradar compuestos contaminantes. Dentro de la biorremediación, recientemente, la fitorremediación ha emergido como una fitotecnología de gran potencial para la remediación de suelos, aire, sedimentos, y aguas contaminadas. Esta fitotecnología se basa en la capacidad de algunas especies vegetales (y microorganismos asociados) para tolerar, absorber, acumular y degradar compuestos contaminantes. Frente a las técnicas físico-químicas, la fitorremediación presenta una serie de ventajas entre las que se puede enfatizar su bajo coste de aplicación, su aproximación más ecológica, y el hecho de ser una tecnología social y estéticamente más aceptada. De hecho, la fitorremediación cada vez más se contempla como la alternativa ecológica a los destructivos métodos físico-químicos habitualmente empleados en nuestros días.

Dentro del término fitorremediación, se diferencian una serie de fitotecnologías atendiendo, sobre todo, a los mecanismos implicados en la remediación de los contaminantes. Entre éstas, se puede destacar la fitoextracción, la fitofiltración (e.g., rizofiltración, blastofiltración), la fitoestabilización, la fitovolatilización, la fitodegradación (i.e., fitotransformación), la biorremediación asistida por plantas (i.e., fitoestimulación, rizodegradación), etc. (Alkorta *et al.*, 2004).

En relación con los metales, las dos fitotecnologías más prometedoras son: (i) la fitoextracción, o la utilización de plantas para extraer metales de los suelos y posteriormente acumularlos en los tejidos aéreos, y (ii) la fitoestabilización, o la utilización de plantas para reducir la disponibilidad de los contaminantes en el suelo y evitar así su dispersión. Al fin y al cabo, a diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales no se degradan por procesos químicos ni biológicos, por lo que presentan una alta persistencia en los suelos. A este respecto, aunque es bien cierto que los microorganismos pueden ser utilizados para la remediación de suelos contaminados con metales (principalmente, mediante inmovilización por precipitación o reducción; existen microorganismos que utilizan metales como aceptores finales de electrones o los reducen como parte de un mecanismo de destoxificación), para la remediación *in situ* de estos emplazamientos, las plantas presentan una gran ventaja sobre los procesos microbianos: las plantas pueden literalmente “extraer” los metales del suelo. A este respecto, cabe mencionar que las plantas denominadas “hiperacumuladoras” son capaces de tolerar, absorber y acumular en sus tejidos altas concentraciones de metales, extrayendo de forma eficiente los metales del suelo.

## La calidad del suelo como objetivo último de un proceso fitorremediador

Es muy importante recalcar que el objetivo último de un proceso fitorremediador de suelos contaminados no debe ser solamente eliminar el contaminante o, en su defecto, reducir su concentración hasta límites marcados en la legislación, sino sobre todo recuperar la [salud del suelo](#), entendida ésta como la capacidad de este recurso para realizar sus funciones (i.e., proveer sus servicios) de forma sostenible desde una doble perspectiva antropocéntrica-ecocéntrica.

En consecuencia, es indispensable disponer de un conjunto de indicadores fiables y relevantes que nos permitan evaluar la salud del suelo, para así poderlos aplicar durante la monitorización de la eficacia de los procesos fitorremediadores de suelos contaminados. Tradicionalmente, con este fin, se han utilizado de forma mayoritaria parámetros físico-químicos con potencial indicador de la salud del suelo (e.g., pH, contenido en materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, capacidad de retención hídrica, etc.). Recientemente, los indicadores biológicos o bioindicadores (un bioindicador se define como “un organismo, o parte de un organismo, o una comunidad de organismos, utilizados para obtener información sobre la calidad del medio ambiente”) de la salud del suelo han surgido con fuerza en este campo debido al hecho de su mayor sensibilidad y rapidez de respuesta frente a las perturbaciones/variables introducidas en el ecosistema suelo y, sobre todo, por su carácter integrador (Alkorta *et al.*, 2003). Algunos de los parámetros biológicos con potencial indicador de la salud del suelo más utilizados son: biomasa microbiana, respiración basal, nitrógeno mineralizable, actividades enzimáticas, grupos funcionales de la microflora, composición y diversidad de las comunidades microbianas, abundancia y diversidad de macro-, meso- y microfauna, patógenos de raíces, crecimiento y diversidad de plantas, etc. (Pankhurst *et al.*, 1997).

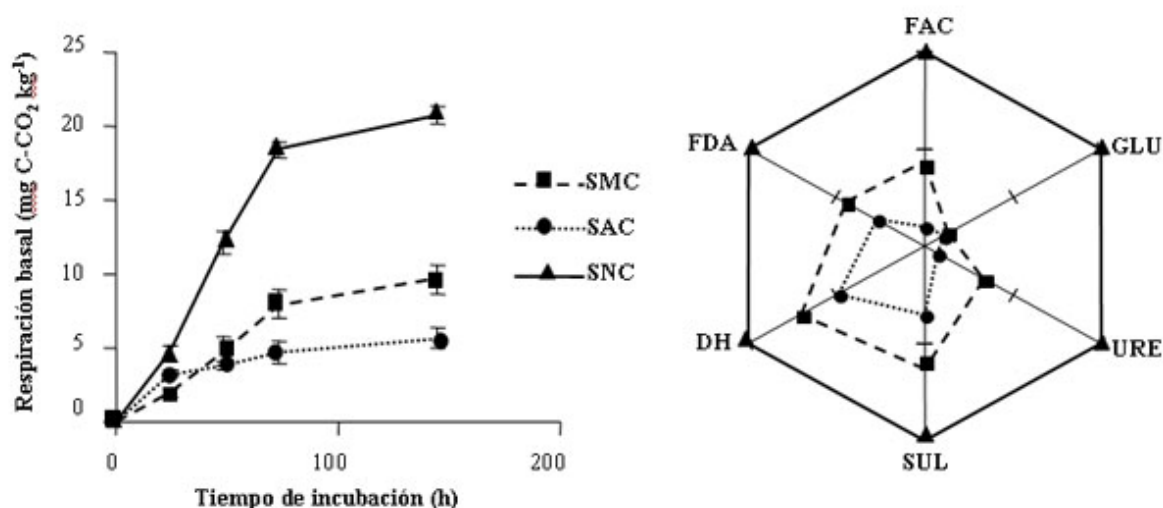
Sin duda, los indicadores biológicos de la salud del suelo, en especial aquellos relacionados con la biomasa, actividad y biodiversidad de las comunidades microbianas, presentan un enorme potencial como herramienta monitorizadora de la eficacia de un proceso fitorremediador. Estos bioindicadores son particularmente útiles para evaluar el efecto que tienen los

procesos fitoextractores de suelos contaminados con metales sobre la salud del suelo. Por ello, en la siguiente sección, se describe brevemente un ensayo de fitoextracción a escala microcosmos, en el que se emplearon bioindicadores de la salud del suelo para evaluar la eficacia del proceso fitorremediador. El objetivo del trabajo era determinar el efecto de un proceso fitoextractor de metales, empleando la especie hiperacumuladora de Zn *Thlaspi caerulescens*, sobre la salud del suelo, evaluada ésta a partir de parámetros biológicos con potencial indicador.

## Ensayo de fitoextracción a escala microcosmos

Inicialmente, se muestrearon dos suelos contaminados con metales (Cd, Pb, Zn), uno altamente contaminado (SAC) y otro moderadamente contaminado (SMC), en una mina abandonada sita en el término municipal de Carranza, Bizkaia. Estos diferentes niveles de contaminación se reflejaban claramente en la estructura de la vegetación: en el SAC, sólo crecía la especie tolerante *Festuca rubra*, que había colonizado aproximadamente el 50% de la superficie del suelo (el otro 50% correspondía a suelo desnudo, no vegetado). Por el contrario, en el SMC, existía una mayor diversidad de especies tales como *Ulex* sp., *Erica* sp., helechos, herbáceas, etc. que cubrían totalmente la superficie del suelo. Al objeto de poder establecer comparaciones con un suelo "control" no contaminado (SNC), se muestreó suelo de una pradera natural polifita adyacente, cubierta principalmente por *Bromus hordeaceus*, *Agrostis capillaris*, *Poa annua*, *Trifolium repens* y *Plantago lanceolata*.

El SAC tenía un pH de 6,7, un contenido en materia orgánica de 4,8%, una relación C/N de 14, y 18.900 mg Zn kg<sup>-1</sup>, 4.930 mg Pb kg<sup>-1</sup> y 15 mg Cd kg<sup>-1</sup>. Por su parte, el SMC tenía un pH de 5,6, un contenido en materia orgánica de 3,5%, una relación C/N de 13, y 890 mg Zn kg<sup>-1</sup>, 340 mg Pb kg<sup>-1</sup> y 3 mg Cd kg<sup>-1</sup>. Antes de realizar el ensayo a escala microcosmos, se determinaron una serie de bioindicadores en los tres suelos (SAC, SMC, SNC) para determinar el impacto de los diferentes niveles de contaminación sobre la actividad de la biota del suelo. En la **Figura 1**, se puede observar el efecto de los metales sobre la respiración basal (medida de la actividad biológica del suelo) y sobre una serie de actividades enzimáticas: deshidrogenasa (indicadora de población microbiana viable), arilsulfatasa (cataliza la hidrólisis de ésteres de sulfato orgánico liberando sulfato, fuente de S disponible para la plantas), ureasa (cataliza la hidrólisis de urea a dióxido de carbono y amonio, fuente de N disponible para la plantas),  $\beta$ -glucosidasa (participa en la hidrólisis de polímeros de residuos de plantas, como la celobiosa, liberando glucosa, fuente de energía para los organismos heterótrofos del suelo), fosfatasa ácida (a partir de fósforo orgánico, libera fosfato, fuente de P disponible para las plantas) y la hidrólisis del diacetato de fluoresceína (indicador de actividad enzimática total). Como se puede ver en dicha **Figura 1**, según aumenta la concentración en metales, disminuyen tanto la actividad biológica de la biota del suelo como las distintas actividades enzimáticas aquí estudiadas. De ello, se deduce que estos parámetros biológicos son sensibles al impacto del metal y, por ello, potencialmente herramientas válidas para evaluar la eficacia de un proceso fitoextractor.



**Figura 1.** Efecto de la contaminación por metales en la respiración basal y en diversas actividades enzimáticas del suelo. SMC: suelo moderadamente contaminado; SAC: suelo altamente contaminado; SNC: suelo control, no contaminado. FDA: hidrólisis de diacetato de fluoresceína; FAC: fosfatasa ácida; GLU:  $\beta$ -glucosidasa; URE: ureasa; SUL: arilsulfatasa; DH: deshidrogenasa. Medias  $\pm$  errores estándar.

Posteriormente, en una cámara de crecimiento bajo condiciones controladas, se estableció un ensayo de fitoextracción a escala microcosmos con *T. caerulescens* utilizando los dos suelos contaminados (SAC, SMC). Las plantas se hicieron

crecer en tiestos (3 réplicas por tratamiento), con suelo contaminado, durante 4 meses. Previamente, los suelos fueron fertilizados con  $120 \text{ mg kg}^{-1}$  de NPK para favorecer el crecimiento de las plantas. Asimismo, en el ensayo, se incluyeron tiestos con suelo contaminado sin plantas, a modo de suelo control, no vegetado.

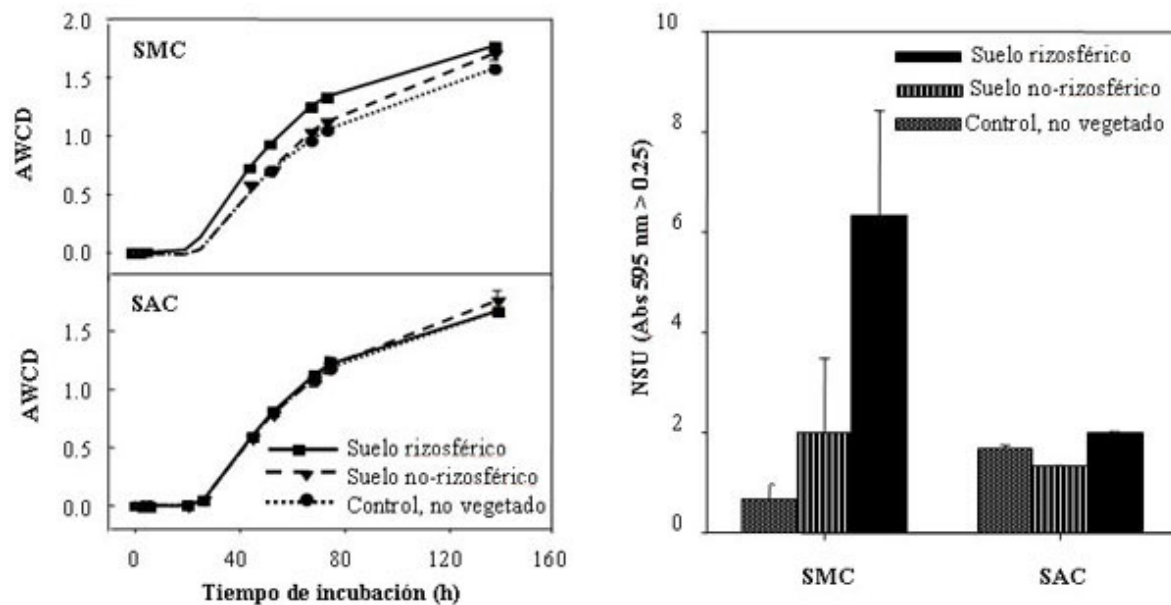
Al cabo de 4 meses, las plantas se cosecharon y se determinó la concentración de metal en planta (parte aérea y raíz), confirmando la excepcional capacidad de *T. caerulescens* para absorber Zn en raíz y posteriormente traslocarlo a los tejidos aéreos. Se observó que, al final del experimento, los niveles de Zn en raíz y parte aérea fueron significativamente más elevados en el SAC que en el SMC. De hecho, las plantas crecidas en el SAC mostraron una concentración de Zn en parte aérea superior a 2,1% en peso seco. Por su parte, la concentración de Zn en parte aérea de las plantas crecidas en el SMC fue aproximadamente de 1,5% en peso seco.

Una vez cosechadas las plantas, se determinaron una serie de parámetros biológicos con potencial indicador de la salud del suelo en suelo rizosférico (la rizosfera es el volumen de suelo que recibe influencia de la raíz; en general, la parte del suelo inmediata a las raíces) y suelo no-rizosférico. A modo de ejemplo, en la **Tabla 1**, se muestran los valores de carbono de la biomasa microbiana (medida de biomasa microbiana) en suelo rizosférico, frente al suelo control de los tiestos incubados en ausencia de plantas. En ausencia de plantas, el carbono de la biomasa microbiana era claramente menor en el SAC frente al SMC ( $171 \pm 32$  y  $238 \pm 10 \text{ mg C kg}^{-1}$ , respectivamente). Por el contrario, en suelo rizosférico, la presencia de *T. caerulescens* (el efecto combinado de su crecimiento y fitoextracción) condujo a valores más elevados y similares en ambos tipos de suelo contaminado ( $248 \pm 13$  y  $246 \pm 15 \text{ mg C kg}^{-1}$  en SAC y SMC, respectivamente). Este aumento de la biomasa microbiana probablemente es debido a la presencia de carbono extra, procedente de los exudados de las raíces.

**Tabla 1.** Efecto del proceso fitoextractor (4 meses de crecimiento de *Thlaspi caerulescens*) sobre el carbono de la biomasa microbiana del suelo. SMC: suelo moderadamente contaminado; SAC: suelo altamente contaminado. Medias  $\pm$  errores estándar.

		<b>Biomasa Microbiana (mg C kg<sup>-1</sup> suelo)</b>
<b>SMC</b>	Suelo control, no vegetado	$238 \pm 10$
	Suelo rizosférico	$246 \pm 15$
<b>SAC</b>	Suelo control, no vegetado	$171 \pm 32$
	Suelo rizosférico	$248 \pm 13$

Asimismo, además de otros parámetros no mostrados aquí, se determinaron los perfiles fisiológicos de la comunidad microbiana mediante el empleo de placas Biolog EcoPlates<sup>TM</sup>. Estas placas permiten estimar la diversidad funcional de las comunidades microbianas del suelo a partir de la evaluación de su capacidad para utilizar diferentes sustratos de carbono. Como puede observarse en la **Figura 2**, en el SAC, el desarrollo medio de color en los pocillos de las placas (AWCD) fue idéntico en los tres tipos de muestras de suelo estudiadas: suelo incubado en ausencia de plantas (control, no vegetado), suelo rizosférico, y suelo no-rizosférico procedente de tiestos con *T. caerulescens*. Por el contrario, en el SMC, se puede observar que el suelo rizosférico presenta unos valores de AWCD superiores a los otros dos tipos de suelo. En consecuencia, es posible concluir que la presencia de *T. caerulescens* condujo a valores más altos de biodiversidad funcional microbiana respecto al suelo no fitorremediado (suelo control, no vegetado).



**Figura 2.** Efecto de la contaminación por metales en los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad microbiana mediante el empleo de placas Biolog EcoPlates™. AWCD: desarrollo medio de color en los pocillos de las placas; NSU: número de sustratos utilizados; SMC: suelo moderadamente contaminado; SAC: suelo altamente contaminado. Medias  $\pm$  errores estándar.

Esta misma tendencia se refleja en el análisis del número de sustratos utilizados (NSU) (**Fig. 2**) por la comunidad microbiana heterótrofa cultivable. Como puede observarse en dicha **Figura 2**, en el SAC no hay grandes diferencias en lo que respecta al NSU. Por el contrario, en el SMC, la presencia de *T. caeruleus* modificó la comunidad microbiana rizosférica aumentando significativamente su capacidad para utilizar sustratos de carbono diferentes.

## Conclusiones

Como resultado del proceso fitoextractor, frente al suelo desnudo no fitorremediado, en el suelo rizosférico de los tiestos con SMC se observó un aumento tanto de la biomasa microbiana como de la diversidad funcional de las comunidades microbianas heterótrofas cultivables. A pesar de que, en las plantas crecidas en el SAC, se observaron concentraciones de metal en parte aérea superiores a las encontradas en aquellas crecidas en el SMC, el aumento de la funcionalidad microbiana no se observó en el SAC probablemente debido al efecto tóxico producido por los altos niveles de metales aún presentes en dicho suelo después del ensayo. Los indicadores biológicos de la salud del suelo presentan un gran potencial para evaluar la eficacia de un proceso fitoextractor de metales.

**Nota 1.** El término “funciones” es muy utilizado en este contexto; no obstante, debido a sus connotaciones teleológicas y antropocéntricas, probablemente no sea el vocablo más adecuado y, por ello, en ocasiones, se utilizan otros términos alternativos como, por ejemplo, “servicios”. [Volver](#)

**Nota 2.** Al igual que sucede con los términos “sostenibilidad”, “desarrollo sostenible”, “salud del ecosistema”, “salud medioambiental”, etc. algunos de ellos de clara naturaleza multidisciplinar e incluso transdisciplinar, existen en la literatura numerosas definiciones y una considerable controversia y debate (unas veces fructífero y otras estéril), sobre el concepto “salud del suelo”. El debate sobre los términos “calidad del suelo” y “salud del suelo”, utilizados indistintamente por algunos autores y claramente diferenciados por otros, no es objeto de este artículo. [Volver](#)

## Referencias

Alkorta, I., Aizpurua, A., Riga, P., Albizu, I., Amezaga, I., Garbisu, C. 2003. Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. *Rev. Environ. Health* 18: 65-73.

Alkorta, I., Hernández-Allica, J., Becerril, J. M., Amezaga, I., Albizu, I., Garbisu, C. 2004. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead and arsenic. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.* 3: 71-90.

Pankhurst, C. E., Doube, B. M., Gupta, V. V. S. R. 1997. Biological indicators of soil health: synthesis. En *Biological Indicators of Soil Health* (eds. Pankhurst, C. E., Doube, B. M. y Gupta, V. V. S. R.), pp. 419-435, CAB International, New York, USA