

PASTOS Y GANADERÍA EXTENSIVA

XLIV REUNIÓN CIENTÍFICA DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA
PARA EL ESTUDIOS DE LOS PASTOS

10-14 de mayo de 2004, Salamanca (España)

BALBINO GARCÍA CRIADO
ANTONIA GARCÍA CIUDAD
BEATRIZ R. VÁZQUEZ DE ALDANA
ÍÑIGO ZABALGOGEAZCOA
(Editores)

Incidencia del Zn de suelos contaminados de la región central sobre comunidades herbáceas de pastizales

A. J. HERNÁNDEZ¹ y J. PASTOR²

¹Dpto. Interuniversitario de Ecología, Sección de la Universidad de Alcalá (Madrid). Edificio Ciencias, Campus. E-mail: anaj.hernandez@uah.es. ²CCMA, CSIC, Serrano 115, Madrid 28006. E-mail: jpastor@ccma.csic.es

RESUMEN: Se presentan los resultados de un ensayo en condiciones controladas con comunidades de pastizales del centro peninsular creciendo en suelo contaminado con cloruro de cinc. Esta sal ha sido elegida con el fin de conocer la respuesta, a nivel de la comunidad, a este tipo de contaminación, de Zn y cloruros, frecuente en suelos antropizados de este territorio, especialmente en antiguos vertederos. Desde los niveles de 300 ppm de Zn total en suelos, no solo decrece la biodiversidad y cobertura vegetal, sino que están afectadas las especies de mayor valor pastoral, especialmente las leguminosas. El diseño experimental es considerado muy idóneo para planteamientos de estudios ecotoxicológicos a nivel de las respuestas pluriespecíficas de plantas de pasto a la contaminación de los suelos.

Palabras clave: bioensayo experimental, ecotoxicidad, Zn total en suelo, biodiversidad.

Effects of Zn in polluted soils of the central region of Spain on herbaceous pasture communities

SUMMARY: This paper reports the results of a bioassay performed under controlled conditions, in which pasture communities of central Spain were grown in soil contaminated with zinc chloride. This salt was chosen to try to establish the response at the plant community level to this type of pollutants, commonly found in this region, especially over abandoned landfills. It was found that total soil Zn levels in the range 300 ppm not only caused a reduction in biodiversity and plant cover but also affected species of most grazing value, particularly legumes. The experimental design used seems to be ideal for this type of ecotoxicologic study aimed at evaluating the response shown by multiple pasture species to soil contamination.

Key words: experimental bioassay, ecotoxicity, total soil Zn, biodiversity.

INTRODUCCIÓN

El Zn es el contaminante metálico más representado en los suelos contaminados existentes en el centro de España, correspondiendo muchos de ellos a antiguas zonas industriales y a antiguos vertederos mixtos de residuos urbanos e industriales, ya sellados, (MOPTMA, 1994; CAM, 1998), además de algunas zonas mineras abandonadas. El interés del estudio que planteamos se apoya en que estos suelos han sido muy utilizados para la cubierta de sellado de muchos vertederos de la provincia de Madrid (Pastor y Hernández, 2002) y nuestra hipótesis de trabajo estriba en poder conocer lo que sucede a causa del Zn, desde la germinación del banco de semillas hasta el establecimiento de la comunidad vegetal. O también, la respuesta de este nivel de organización biológica, como es la comunidad, a la contaminación producida por una sal soluble de Zn, como es el cloruro de este elemento, ya que también sabemos que los niveles de cloruros son elevados en las cubiertas de vertederos (Pastor *et al.*, 1993).

MATERIAL Y MÉTODOS

Han sido inventariadas 53 parcelas de 1m² distribuidas al azar en pastizales oligotrofos en claros de retamar y encinares adherados ubicados en territorio arcósico del centro peninsular, así como 36 parcelas de análogas características en 4 vertederos sellados del mismo territorio. Los parámetros esenciales que han sido valorados para el planteamiento del ensayo experimental se exponen en la Tabla 1. Los análisis de los suelos se realizaron en la capa superficial (0-10 cm.). La determinación del contenido total de Zn se realizó por absorción atómica y la de los cloruros por cromatografía iónica.

Se ha realizado un bioensayo experimental de seis meses, en condiciones controladas (25° C de máxima y 15° C de mínima, con 60-70 % de humedad relativa), con suelo procedente de campo (muestra media del recogido en los 53 inventarios de los pastizales). Hemos contaminado este suelo previamente con cloruro de cinc en concentraciones crecientes del metal (300, 500 y 700 ppm). Se trata de una sal soluble que hemos incorporado al suelo, recogido en campo en una sola vez, al comienzo del experimento. El diseño experimental simula una de las situaciones más frecuentes que se da en el escenario real: la producción de lixiviados superficiales por acción de la lluvia sobre el suelo contaminado, o también en la cubierta edáfica del sellado de vertederos mixtos como los estudiados por nosotros (Pastor *et al.* 1993; Pastor y Hernández, 2002; Hernández *et al.* 1999). El microcosmos elegido es una cubeta de plástico de proporciones similares al tamaño que se asemeja a una de las unidades de medida utilizada para la recogida de la biodiversidad de las comunidades herbáceas que crecen en este tipo de pastizal (25 x 25 cm). El inventario de tres unidades de estas proporciones, similares a las que son distribuidas al azar en los muestreos de las comunidades en campo, recogen con bastante aproximación la diversidad de herbáceas de las mismas. Las cubetas tienen una altura de 6 cm y están provista de un rejilla para el drenaje situada a 1 cm de la base; con ello se dispone de una proporción de suelo análoga a los 5 primeros cm de la capa superficial edáfica, debido al papel fundamental que juegan éstos en los pastos herbáceos (esencialmente, mayor densidad del banco de semillas y mayor actividad biológica). Tres replicaciones por tratamiento y control, un riego con agua desionizada de 200 ml /cubeta cada 48 h mientras duró el tiempo de exposición (seis meses). Este período trata también de aproximarnos a la situación real de máxima actividad y crecimiento de comunidades herbáceas con predominio de terófitos en territorio mediterráneo (intervalo otoño-final de primavera).

Los niveles de Zn en suelo han sido elegidos en base a las referencias bibliográficas que se sitúan entre 300 y 500 mg kg⁻¹ para estudios del efecto tóxico en plantas herbáceas producidas por este metal, (McGrant *et al.*, 1993; Sutherland y Tolosa, 2001), así como a aquellos valores que aparecen en suelos contaminados del centro peninsular a los que hemos hecho referencia en la introducción.

Los parámetros evaluados en este ensayo han sido: n° de individuos que nacieron y sobrevivieron durante los primeros 15 días, cobertura vegetal del suelo y de las especies más abundantes que crecieron al finalizar el ensayo, además del n° total y biodiversidad (índice de Shannon). Ha sido necesaria una monitorización continua que permitiera obtener los datos antes de ser analizados. Estos han sido estudiados mediante análisis de la varianza (ANOVA) de una vía y un test post-hoc (DMS). En las tablas expuestas en los resultados, los valores de de la misma columna seguidos por una letra distinta, son significativamente diferentes al nivel del 95%.

Tabla 1. Parámetros edáficos y de la comunidad herbácea (valores medios) de pastizales del territorio arcésico y de la que se desarrolla en vertederos sellados con suelos de ese entorno.

Referencia	pH en agua	Zn mg/kg	Cl- mg/100g	Nº total especies	Cobertura %	Nº Taxones Gramíneas	Nº Taxones Leguminosas
Pastizal	5,7	27,5	7	106	81	17	26
Vertedero	7,1	83,5	17,8	65	40	19	14

Tabla 2. Resultados obtenidos al finalizar la primera quincena del ensayo.

Tratamientos	Nº de Individuos (x ± d.t.)
Control	545,7 ± 35,2 a
300 ppm	427,3 ± 19,9 b
500 ppm	310,3 ± 61,6 c
700 ppm	285,7 ± 56,7 c

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis estadístico del número de individuos que nacieron y sobrevivieron durante los primeros 15 días del ensayo y después de finalizar el 2º mes, (Tablas 2 y 3), así como los resultados expuestos en la Tabla 4, permiten mostrar el importante efecto de esta sal sobre la comunidad vegetal. Se puede decir que la mayoría de las especies anuales propias de las comunidades de origen no crecen en los suelos con la contaminación más elevada de Zn (500-700 ppm) y se perciben ya las diferencias entre la comunidad testigo y la que crece en los suelos con 300 ppm de Zn al cabo de la 1ª quincena.

Sin embargo, teniendo en cuenta el hecho que las cubiertas edáficas de los vertederos ubicados en sustratos arcósicos no presentan vegetación cuando las cantidades de cloruros son muy elevadas - entre 100 y 400 mg/100g - (Pastor y Hernández, 2002), pensamos que no podemos atribuir solamente al Zn la acción desfavorable sobre la diversidad de la comunidad.

Esta cuestión precisará de mayor investigación futura en relación a comprobar los efectos del cloro, máxime cuando sabemos que la salinización influye en el crecimiento de leguminosas y gramíneas, así como en la disminución del peso seco de las mismas (Hernández *et al.*, 1999).

Tabla 3. Resultados obtenidos quincenalmente, durante los dos primeros.

Quincena	Nº de Individuos (x±d.t.)
1ª	285,7 ± 56,7a
2ª	173,7 ± 34,0 b
3ª	75,0 ± 13,4 c
4ª	43,7 ± 7,5 c

Tabla 4. Diversidad y cobertura vegetal al finalizar el bioensayo.

	Tratamiento	Media (±d.t.)
Diversidad (bits)	0	3,11 ± 0,27 a
	300	3,15 ± 0,28 a
	500	2,40 ± 0,42 b
	700	2,19 ± 0,26 b
Nº de especies	0	18,0 ± 2,0 a
	300	14,3 ± 2,1 a
	500	9,0 ± 2,6 b
	700	5,7 ± 0,6 b
Cobertura %	0	73,3 ± 7,6 a
	300	60,7 ± 2,5 b
	500	55,0 ± 2,6 b
	700	26,3 ± 4,5 c

No hay ni una especie de leguminosa en el nivel 700 ppm de Zn, y solamente *Lathyrus angulatus* L. en el nivel 500, así como tampoco ha germinado ninguna especie de tréboles en los diferentes tratamientos (Tabla 5-a), aunque aparezcan en las cubetas testigo. La disminución de leguminosas ya la habíamos observado en los vertederos de referencia (Tabla 1) indicando en un trabajo anterior, (Urcelai *et al.*, 1994), que probablemente dicha disminución en la riqueza de especies de esta familia botánica tan importante en los pastizales, era debida a la contaminación del suelo por compuestos inorgánicos.

Las especies que llegan a crecer en el tratamiento con mayor contenido de Zn en suelo son *Vulpia myuros* (L.) C.C. Gmel., *Trisetum paniceum* (Lam.) Pers., *Anagallis arvensis* L., *Plantago coronopus* L. y *Plantago*

lagopus L., siendo ésta última la que ocupa 1/3 de la superficie del suelo. La presencia de *Ranunculus* sp. en los niveles de 300 y 500 puede ser debida al efecto conjunto del oligoelemento añadido al suelo con el nivel permanente de agua dado el riego constante mantenido en el ensayo, ya que esta especie no aparece en la comunidad testigo del bioensayo, ni tampoco en los 53 inventarios realizados a mediados de primavera en los pastizales de referencia.

Tabla 5a. Cobertura de las especies de gramíneas y leguminosas ($\bar{x} \pm d.t.$) al finalizar el bioensayo.

Tratamiento	GRAMÍNEAS	Recubrimiento %	LEGUMINOSAS	Recubrimiento %
0	<i>Gaudinia fragilis</i>	1,33 \pm 2,31 a	<i>Lathyrus angulatus</i>	0,17 \pm 0,29 a
300		3,67 \pm 4,04 a		0,00 \pm 0,00 a
500		1,00 \pm 1,00 a		1,33 \pm 1,53 a
700		0,00 \pm 0,00 a		0,00 \pm 0,00 b
0	<i>Polypogon maritimus</i>	0,33 \pm 0,29 a	<i>Trifolium arvense</i>	3,33 \pm 4,04 a
300		1,33 \pm 2,31 a		0,00 \pm 0,00 a
500		4,00 \pm 6,93 a		0,00 \pm 0,00 a
700		0,00 \pm 0,00 a		0,00 \pm 0,00 a
0	<i>Trisetum paniceum</i>	1,00 \pm 1,00 a	<i>Trifolium campestre</i>	2,33 \pm 0,58 a
300		1,67 \pm 2,89 a		0,00 \pm 0,00 b
500		1,67 \pm 1,53 a		0,00 \pm 0,00 b
700		6,33 \pm 3,51 b		0,00 \pm 0,00 b
0	<i>Vulpia bromoides</i>	0,33 \pm 0,29 a	<i>Trifolium glomeratum</i>	1,00 \pm 0,00 a
300		0,03 \pm 0,29 a		0,00 \pm 0,00 a
500		0,02 \pm 0,29 a		0,00 \pm 0,00 a
700		0,00 \pm 0,00 a		0,00 \pm 0,00 a
0	<i>Vulpia myuros</i>	1,33 \pm 0,58 a		
300		5,67 \pm 8,14 a		
500		23,33 \pm 10,26 a		
700		4,00 \pm 1,00 b		

Por lo que respecta a los valores de cobertura de las especies que han tenido entidad en los tratamientos efectuados al final del ensayo experimental (Tablas 5a y 5b), hay que considerar por una parte las frecuencias absolutas de esas especies en los 53 inventarios realizados en los pastizales de referencia, ya que la proporción de semillas en el suelo de partida para el bioensayo estará relacionada. Así, para las gramíneas, no es lo mismo que la frecuencia de *V. myuros*, sea del 94,4 % frente a *V. bromoides* (L.) Gray que es del 5,7 % al igual que para *Gaudinia fragilis* (L.) P. Beauv., o para *Andryala integrifolia* L. una frecuencia de 97 % comparada con otra especie de esta familia, como es *Sonchus asper* (L.) Hill, que presenta un 2,9 %. Sin embargo, al observar los resultados expuestos en las últimas tablas, hay que reconocer que la contaminación del suelo influye en los taxones presentes en las cubetas del ensayo, como decíamos anteriormente, dado que una cobertura media del 73,3 % en las cubetas control se asemeja mucho más a la alcanzada en los pastizales de procedencia (80%) que a la de los vertederos sellados con suelos del mismo entorno (40 %).

Estos resultados confirman que niveles por encima de 300 ppm de Zn total en suelo, afectan no solo a la composición florística de estos pastizales, sino que cambia también la estructura de la comunidad en cuanto a la dominancia de unas especies de menor valor pastoral. No obstante, este resultado puede interpretarse también en relación a que las especies que logran crecer en los suelos con altos niveles de Zn, pueden ser consideradas para proyectos de descontaminación de suelos afectados por dosis altas de este elemento traza. Por otra parte, el porcentaje de cobertura vegetal puede considerarse como un biomarcador para el contenido de Zn de los suelos contaminados con este metal, al igual que exponemos para el caso del Cu en Pastor *et al.* (2003), a partir de la 7ª semana de la germinación de sus bancos de semillas.

Tabla 5b. Cobertura de especies pertenecientes a las Compuestas y a otras familias botánicas ($\bar{x} \pm \text{d.t.}$) al finalizar el bioensayo.

Tratamiento	COMPUESTAS	Recubrimiento %	OTRAS FAMILIAS	Recubrimiento %
0	<i>Andryala integrifolia</i>	0,17 \pm 0,29 a	<i>Anagallis arvensis</i>	2,33 \pm 2,31 ab
300		0,17 \pm 0,19 a		5,67 \pm 2,31 bc
500		0,00 \pm 0,00 a		2,67 \pm 1,53 ab
700		0,00 \pm 0,00 a		1,33 \pm 0,58 a
0	<i>Anthemis arvensis</i>	1,67 \pm 2,08 a	<i>Cerastium glomeratum</i>	1,67 \pm 2,08 a
300		0,33 \pm 0,58 a		0,67 \pm 0,58 a
500		0,00 \pm 0,00 a		0,00 \pm 0,00 a
700		0,00 \pm 0,00 a		0,00 \pm 0,00 a
0	<i>Centaurea melitensis</i>	0,33 \pm 0,58 a	<i>Galium parisinse</i>	1,00 \pm 1,00 a
300		0,17 \pm 0,29 a		0,67 \pm 0,29 ac
500		0,00 \pm 0,00 a		0,33 \pm 0,58 bc
700		0,00 \pm 0,00 a		0,00 \pm 0,00 b
0	<i>Crepis capillaris</i>	1,00 \pm 1,00 a	<i>Geranium sp.</i>	0,33 \pm 0,29 a
300		0,00 \pm 0,00 b		0,67 \pm 0,58 a
500		0,00 \pm 0,00 b		1,00 \pm 1,00 a
700		0,00 \pm 0,00 b		0,00 \pm 0,00 a
0	<i>Hypochaeris glabra</i>	8,67 \pm 6,11 a	<i>Juncus buffonius</i>	24,33 \pm 8,14 a
300		4,00 \pm 3,61 ab		8,00 \pm 2,00 b
500		2,00 \pm 2,00 ab		0,00 \pm 0,00 c
700		0,00 \pm 0,00 b		0,00 \pm 0,00 c
0	<i>Sonchus asper</i>	0,67 \pm 0,58 a	<i>Ranunculus sp.</i>	0,00 \pm 0,00 a
300		6,00 \pm 7,81 a		0,33 \pm 0,58 a
500		8,00 \pm 3,46 a		0,33 \pm 0,58 a
700		2,67 \pm 2,52 a		0,00 \pm 0,00 a
0	PLANTAGINACEAS <i>Plantago coronopus</i>	0,33 \pm 0,58 a	<i>Spergularia rubra</i>	2,00 \pm 2,00 a
300		5,00 \pm 5,00 a		0,67 \pm 0,58 ab
500		1,33 \pm 2,31 a		0,00 \pm 0,00 bc
700		3,33 \pm 1,53 a		0,00 \pm 0,00 bc
0	<i>Plantago lagopus</i>	11,67 \pm 12,58 a		
300		12,67 \pm 9,50 a		
500		7,67 \pm 2,08 a		
700		8,67 \pm 6,03 a		

Por último, señalar que consideramos importante el tipo de diseño realizado en este ensayo, en cuanto a planteamientos realistas en orden a la ecotoxicología, debido a la prácticamente inexistencia de resultados de la acción de contaminantes inorgánicos a nivel de comunidad herbácea pluriespecífica.

CONCLUSIONES

Se concluye que el cloruro de Zn afecta a la diversidad de plantas de pastizales oligotrofos y mesofíticos ya desde los estados iniciales de la comunidad. Este resultado es importante para comprender lo que sucede cuando los suelos del sellado de los vertederos son utilizados para acciones de fitorremediación de estos sistemas. Este resultado necesita ser acompañado con una mayor investigación acerca del efecto del cloro independientemente del metal. En cualquier caso, la salinidad debida a un alto contenido de este cloruro y a elevadas concentraciones de Zn en la capa superficial edáfica, hace decrecer la presencia de las leguminosas sobre todo en este tipo de pastizales en el que esta familia juega un papel primordial en la estructura y función de los mismos.

AGRADECIMIENTOS

El trabajo ha sido financiado por Proyecto REN2002-02501 del M.C.y T.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAM, 1998. Inventario y caracterización de suelos contaminados. Informe técnico nº 60/98. Técnicas de Protección Ambiental, S.A. (España).
- HERNÁNDEZ, A. J.; ADARVE, M^a. J.; PASTOR, J., 1999. Soil Salination from Landfill Leachates: Effects on the Macro-nutrient Content and Plant Growth of four Grassland Species. *Chemosphere*, **38**, 1693-1711.
- McGRATH, S.P.; SIDOLI, C.M.D.; REEVES, R.D., 1993. The Potential for the use of metal-accumulating plants for this in situ decontamination of metal-polluted soils. En: *Integrated Soil and Sediment Research: A Basis for Proper Protection*, H.J.P. Eijsackers and T. Hamers, 673-676. Ed. Kluwer Academic Publisher, (Netherlands).
- MOPTMA, 1994. *Inventario nacional de espacios contaminados*. Fase II. UTE, INITEC, ADARO, COVITECMA.
- PASTOR, J.; URCELAY, A.; OLIVER, S.; HERNÁNDEZ, A. J., 1993. Impact of Municipal Waste on Mediterranean Dry Environments. *Geomicrobiology Journal*, **11**, 247-260 (U.K.).
- PASTOR, J.; HERNÁNDEZ, A. J., 2002. Estudio de suelos y vertederos sellados y de sus especies vegetales espontáneas para la fitorrestauración de suelos degradados y contaminados del centro de España. *Anales de Biología*, **24**, 145-153 (España).
- PASTOR, J.; GUTIÉRREZ-MAROTO, A.; HERNÁNDEZ, A. J., 2003. Biomarcadores a nivel de una comunidad herbácea de pasto y de una población forrajera para suelos contaminados por cobre. *Anales de Biología*, **25**, 103-108 (España).
- SUTHERLAND, R.A.; TOLOSA, C., 2001. Variation in Total and Extractable Elements with Distance from Roads in an Urban Watershed, Honolulu, Hawaii. *Water, Air, and Soil Pollution*, **127**, 315-338 (Netherlands).
- URCELAI, A.; PASTOR, J.; HERNÁNDEZ, A. J., 1994. Los contaminantes inorgánicos de suelos de vertederos de R.S.U. en relación a los organismos vivos. En: *II Congreso Internacional de Suelos Contaminados*, Vitoria-Gasteiz 21-22 septiembre: 17-20. Ed. IHOBE (España).