

Comunicaciones

IX Simposio Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas

Zaragoza, España

10-13 de Septiembre de 2002



INSTITUCIÓN «FERNANDO EL CATÓLICO»

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
Zaragoza, 2002

COMITÉ EDITORIAL CIENTÍFICO:

Javier Abadía Bayona
Anunciación Abadía Bayona
Ana Álvarez Fernández
Fermín Morales Iribas

***Publicación número 2.295 de la Institución Fernando el Católico (Excma.
Diputación de Zaragoza)***

ISBN: 84-7820-657-4

Depósito legal: HU-306/2002

Impreso por (Printed by): Gráficas Barbastro, S.L.

Maquetación (Typesetting): Juanjo Ascaso

Portada (Cover art): Juanjo Ascaso

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO ACUMULADOR DE Zn EN *Lupinus albus* L. CRECIENDO EN SUELOS ÁCIDO Y BÁSICO CONTAMINADOS CON ESTE METAL

PASTOR, J. (1); HERNÁNDEZ, A.J. (2); PRIETO, N. (1); FERNÁNDEZ-PASCUAL, M. (1)

(1) Centro de Ciencias Medioambientales, CSIC. Madrid.

(2) Dto. Interuniversitario de Ecología, Universidad de Alcalá. Madrid

Introducción

Existen en España numerosas áreas con suelos alterados que corresponden a antiguos vertederos, precariamente sellados, de carácter mixto (con residuos urbanos e industriales). En el centro del país y, concretamente en la Comunidad de Madrid, las cubiertas edáficas que cubren estos vertederos se encuentran entre los suelos más contaminados de este área peninsular (CAM 1998). Su aprovechamiento actual, pese a su degradación, vuelven a ser actividades agrícolas, y cinegéticas, correspondientes a prácticas habituales del uso tradicional del territorio. Los contaminantes más frecuentes en estos vertederos son diferentes metales pesados, entre los que destaca por su incidencia el Zn seguido del Cu, según puede verse en los estudios citados.

Es sabido que distintas especies cultivadas de uso común son extractoras, en mayor o menor grado, de metales pesados cuando crecen en suelos contaminados (Chaney, 1989). En el caso de que este hecho se desconozca, puede ser perjudicial para los organismos consumidores de las plantas cultivadas. Sin embargo, esta propiedad extractora constituye una alternativa de empleo respecto a las especies hiperacumuladoras, en razón a su mayor producción de biomasa y a que logran crecer bien y con bajos costes económicos en ambientes donde su uso es habitual y su manejo conocido. En este sentido, el altramuz (*Lupinus albus* L.), podría ser una planta adecuada para emplearse como extractora de metales pesados de las cubiertas edáficas de los vertederos. Aquí se sitúa el objetivo de este trabajo. La elección de esta especie se fundamenta en base a diversas características ecofisiológicas que presenta en relación a su adaptabilidad a las condiciones reales que se dan en los vertederos, como son una elevada salinidad, exceso de nitratos y en ocasiones de calcio (Hernández *et al.*, 1998); la capacidad de solubilizar y absorber los elementos del suelo gracias a un potente desarrollo radicular, así como el poseer una importante tolerancia frente a los factores ambientales limitantes señalados (Fernández-Pascual *et al.*, 1996), le hace ser una planta candidata a la fitorremediación de estos sistemas. También se sabe que los lupinos pueden acumular Mn y Al (Reay and Waugh, 1981) y recientemente se ha visto la acumulación de varios metales (Mn, Cd, Pb, Cr, Hg) en la raíz (Ximénez-Embún *et al.*, 2001). Por ello nos hemos propuesto estudiar su comportamiento frente al Zn en dos tipos de suelos, similares a los empleados en el sellado de los vertederos del sureste de Madrid y en unos niveles de contaminación en línea a la encontrada en vertederos.

Material y Métodos

Semillas de *L. albus* cv Multolupa fueron esterilizadas en superficie y germinadas a 25° en cámara de crecimiento en oscuridad. Dos plántulas de 5 días fueron sembradas en macetas que contenían un kg de suelo (correspondientes a la capa superficial de un luvisol cálcico normal y del mismo tipo de suelo pero descalcificado en superficie, procedente del entorno de los vertederos), cuyas características se muestran en la tabla 1. A los suelos, previamente se había añadido el Zn (en forma de $ZnCl_2$, sal adecuada por su solubilidad y por ser el Cl^- el anión más frecuente en los vertederos estudiados). Cada una de las plantas fue inoculada dos veces (en el momento de la siembra y una semana más tarde) con 1 ml de una suspensión que contenía *Bradyrhizobium* sp (*Lupinus*), estirpe ISLU-16, en una fase de crecimiento exponencial, que contenía 10^8 ufc/ml.

El ensayo se realizó en invernadero durante 12 semanas en condiciones controladas (25°C de máxima y 15°C de mínima, con 60-70% de humedad relativa) y 4 replicaciones por tratamiento (100, 150, 300, y 700 ppm de Zn) y control. Las macetas se regaron con agua desionizada. El detalle de los análisis de suelos y planta se exponen en Hernández y Pastor, (1989). La actividad nitrogenasa se midió según Fernández-Pascual *et al.* 1988. Los resultados obtenidos se estudiaron mediante análisis de la varianza de una vía, seguido de un análisis post-hoc de comparación múltiple de medias usando el test de la "diferencia menos significativa" (nivel de significación de $p < 0,05$). Los tratamientos estadísticos se realizan con los datos transformados logarítmicamente utilizando el paquete SPSS 11,0; los que tienen igual letra en una columna no difieren significativamente.

Resultados y Discusión

En la Tabla 1 se exponen los parámetros químicos de ambos suelos.

Suelo inicial	pH	N	MO %	Ca	Mg	K	Na	P	Zn (ppm)		Fe (ppm)		Mn (ppm)	
									Tot	Asi	Tot	Asi	Tot	Asi
Básico	7,3	0,094	0,40	597	8,6	18,0	1,0	570	33	n.d.	13620	0,8	188	2,6
Ácido	5,1	0,072	1,37	76	18,9	13,0	1,4	208	35	0,1	11798	3,6	110	1,0

n.d.: no detectable Tot: total Asi: asimilable

En la tabla 2 puede observarse el comportamiento del lupino en los dos suelos y cómo afectan los diferentes niveles de Zn a los caracteres estudiados. En el suelo básico no existen diferencias significativas en la altura, pero ésta en cambio se ha visto significativamente afectada en el suelo ácido, mientras que los pesos húmedo y seco de las raíces y partes aéreas de la planta se ven significativamente afectados en uno u otro tipo de suelo. Lo más destacable es que en el suelo ácido, la planta se ha visto seriamente afectada en su crecimiento a partir del tratamiento de 300 ppm de Zn. Apenas tolera ya el "nivel 500" y no crece, en absoluto en el "nivel 700". Esto no sucede en el suelo básico, en el que consigue crecer en todos los tratamientos.

Tabla 2.-Altura y pesos de parte aérea y raíz de lupino para los diferentes tratamientos de Zn en suelos ácido y básico.

Concentración (ppm)	Altura (cm)		Peso parte aérea (g) /planta				Peso raíz (g) /planta			
	Suelo ácido	Suelo básico	Húmedo		Seco		Húmedo		Seco	
			Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico
Control	29,8a	19,8a	15,0a	12,0a	2,3a	1,2ab	4,8a	0,7ab	0,53a	0,23a
100	21,5b	20,3a	13,0a	5,9abc	1,9b	0,9ac	4,7a	0,4ac	0,52a	0,14bc
150	20,0b	18,1a	11,9a	5,7abc	1,7b	0,9ac	4,0a	0,3a	0,46a	0,11bc
300	13,0c	20,1a	4,3b	7,3ab	0,8c	1,3b	2,0b	1,0b	0,21b	0,27a
500	11,0 ¹	20,4a	3,7 ¹	5,7bc	0,7 ¹	1,0bc	1,2 ¹	0,8bc	0,16 ¹	0,19ab
700	-	19,0a	-	4,5c	-	0,7b	-	0,6bc	-	0,09c

¹El nivel 300 y el 500 en el suelo ácido se unieron en el análisis estadístico

En la Tabla 3 se muestran los datos correspondientes al número y peso de los nódulos y a la actividad nitrogenasa observada en ambos suelos para los distintos tratamientos. Se observa que la contaminación de Zn afectó significativamente a estos parámetros en ambos suelos y, de forma más importante, al crecer en el suelo ácido; manifestándose así que los contenidos elevados de Zn en el suelo resultaron muy negativos para la nodulación y la actividad nitrogenasa de la planta.

Tabla 3.-Nodulación y actividad nitrogenasa de plantas de lupino en suelos ácido y básico sometidos a diferentes tratamientos de Zn.

Concentración (ppm)	Nódulos				Etileno		Etileno	
	Nº nódulos		(mg.)/planta		µmol/g. nódulo		µmol/planta	
	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico
Control	114,1a	7,6a	530,4a	84,1ac	11,43a	16,08a	6,13a	1,33a
100	43,8b	0,8bd	313,6b	18,0ab	8,36b	2,55b	2,84b	0,02b
150	42,0b	0,5b	230,0b	5,9b	6,34b	0,83b	2,49b	0,01b
300	4,5c	2,9c	23,1c	116,0c	0,41c	14,70ac	0,02c	2,34c
500	2,0 ¹	3,4cd	52,2 ¹	112,0c	1,31 ¹	8,72cd	0,07 ¹	0,68d
700	-	0,1b	-	0,7b	-	4,08bd	-	0,01b

¹El nivel 300 y el 500 en el suelo ácido se unieron en el análisis estadístico

Las aparentes anomalías que se pueden observar tanto en esta última tabla como en alguna de las restantes en relación a una observable mejora en el comportamiento del lupino en tratamientos con mayor nivel de contaminación (300 y 500) en el suelo básico, nos llevó a analizar *a posteriori* las variables químicas de

los suelos. Así, la mayor diferencia destacable con las medidas iniciales del suelo era que el contenido de Ca resultó ser un 5% inferior al contenido medio observado en los restantes tratamientos de dicho suelo. Esta pequeña diferencia ha sido suficiente para causar una variación en la respuesta de la especie, ya que ha cambiado algunas de las razones entre nutrientes, así las razones Ca/Mg y Ca/K son más bajas y menos anómalas con respecto al control en la parte aérea, pero en cambio son más elevadas en raíz en estos tratamientos. La razón Ca/Zn se ve también afectada en la raíz en el "nivel 300", pero sucede además que en el "nivel 150", el contenido en calcio del suelo es algo más elevado (2,4%) lo que tiene como consecuencia que en este nivel se alcancen los valores más elevados (más anómalos respecto al control) de las razones Ca/Mg y Ca/K de la parte aérea. En este suelo básico y tratamiento se dan a su vez las razones más anómalas (más elevadas) con respecto al control, de Ca/P, Mg/P, K/P en raíz y también los de Ca/Mg, Ca/P, K/P en parte aérea, lo que puede explicar el mal comportamiento del lupino en dicho tratamiento. Además en el "nivel 100" de Zn en el suelo básico, donde la especie también parece presentar problemas, tampoco son adecuados los valores que alcanzan las razones nutricionales respecto al control, y así no son buenas para la correcta nutrición de la planta las razones Ca/Mg, Ca/K, Ca/P en parte aérea y K/P en raíz.

En las tablas 4 y 5 podemos ver los contenidos en nutrientes en parte aérea (tallo+hojas) y raíz de la especie. El contenido de Cu de la planta no se muestra en el suelo básico por hallarse por debajo del nivel de detección del equipo medidor. Las diferencias observadas al aumentar el contenido de Zn en los suelos han sido significativas en la mayoría de los casos sobre el contenido de los diferentes nutrientes, excepto en Ca y Mg del suelo ácido y K y Mn en el suelo básico en la raíz. Además, los contenidos de Fe y Mn en el suelo ácido, y en la parte aérea.

Tabla 4a.-Contenidos de Ca, Mg, K, Na y P (%) en la parte aérea de lupino en los dos suelos y en los diferentes niveles de Zn.

Concentración (ppm)	Ca		Mg		K		P	
	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico
Control	0,50a	1,75ac	0,29a	0,30a	2,28a	3,55abc	0,22a	0,14abc
100	0,91b	2,20ab	0,34b	0,24b	2,11ab	3,68abc	0,13ab	0,14abc
150	1,08b	2,53b	0,38c	0,25b	1,96b	4,10ac	0,11b	0,14ac
300	2,19c	1,45c	0,66d	0,22bc	1,61c	3,03b	0,17c	0,11b
500	1,63 ¹	1,55c	0,46 ¹	0,23cd	1,63 ¹	3,20bc	0,21 ¹	0,14bc
700	-	1,93abc	-	0,27d	-	3,98c	-	0,16c

Tabla 4b.- Contenidos de Zn, Fe, Mg y Cu (ppm) en la parte aérea de lupino en los dos suelos y en los diferentes niveles de Zn.

Concentración (ppm)	Zn		Fe		Mn		Cu
	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido
Control	15,8a	23,0a	84,5a	48,3ac	640,0a	218,0a	6,8a
100	475,5b	45,8b	159,5a	36,0ac	860,0a	146,0abc	5,8a
150	597,0c	39,0b	124,5a	36,3ac	889,3a	112,8b	8,7a
300	3605,0d	51,3bc	136,5a	100,5b	930,0a	178,3ac	10,5a
500	1638,0 ¹	75,0cd	475,0 ¹	56,3c	988,0 ¹	149,5abc	10,0 ¹
700	-	102,9d	-	48,3ac	-	115,7bc	-

¹El nivel 300 y el 500 en el suelo ácido se unieron para realizar el análisis estadístico

En la tabla anterior, los desajustes en las razones entre nutrientes explican el comportamiento de la planta respecto al suelo en diferentes casos, como se ha dicho anteriormente. Además en las razones en las que interviene el Zn, se pone de manifiesto el desajuste extremo que muestran con respecto a los respectivos controles, especialmente en suelo ácido y en los tratamientos con contenido más elevado y, en menor grado, en el suelo básico. La cantidad de Zn acumulada por el lupino en suelos ácidos, aún de bajo contenido en este elemento (100 ppm), resultaría ya claramente tóxica para el ganado ovino que la consumiera, pues supera claramente los 300 ppm máximo nivel tolerado por el ganado ovino y se acerca al nivel máximo tolerado por vacuno (500 ppm) (Chaney *et al*, 1989) que ya se alcanza en el suelo ácido en el nivel "150" de Zn.

Tabla 5a.- Contenidos de Ca, Mg, K, Na y P (%) en la raíz de lupino en los dos suelos y en los diferentes niveles de Zn.

Concentración (ppm)	Ca		Mg		K		P	
	Suelo ácido	Suelo básico						
Control	0,30a	1,09a	0,18a	0,32ab	1,74a	2,05a	0,25a	0,13ac
100	0,30a	1,05a	0,30a	0,41a	1,76a	2,18a	0,06b	0,08bd
150	0,35a	1,05a	0,23a	0,39ab	1,86a	2,09a	0,10b	0,07bd
300	0,50a	1,43a	0,40a	0,38ab	2,31b	1,65a	0,20a	0,12ac
500	0,25 ¹	2,34b	0,24 ¹	0,40ab	2,25 ¹	2,53a	0,29 ¹	0,14ac
700	-	1,46a	-	0,26b	-	2,03a	-	0,10cd

Tabla 5b.- Contenidos de Zn, Fe, Mg y Cu (ppm) en la raíz de lupino en los dos suelos y en los diferentes niveles de Zn.

Concentración (ppm)	Zn		Fe		Mn		Cu
	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido	Suelo básico	Suelo ácido
Control	100,0a	51,9a	1904,5a	2195,4a	94,5ab	27,2a	10,0a
100	1141,5b	183,8b	1007,8b	2000,0a	115,5ab	36,6a	10,9a
150	1454,0b	305,0b	1216,5ab	1056,5ab	109,5ab	29,2a	18,9b
300	4650,0c	281,0b	1575,0ab	783,1b	95,0b	26,9a	25,0b
500	5200,0 ¹	898,1c	2138,0 ¹	1610,0a	70,0 ¹	30,6a	15,0 ¹
700	-	851,3c	-	1857,9a	-	33,2a	-

¹El nivel 300 y el 500 en el suelo ácido se unieron para realizar el análisis estadístico

Conclusiones

Las raíces de *Lupinus albus* cv. Multolupa absorben cantidades elevadas de Zn en los tratamientos con mayor contaminación en el suelo básico, pero ello no se refleja en el contenido de la parte aérea. En el suelo ácido la absorción de Zn por las raíces es muy elevada ya desde el "nivel 100", tanto que a partir del "nivel 300" y más aún en el "500" el crecimiento de la planta presenta muchos problemas. La parte aérea de esta especie acumula también cantidades importantes de Zn. La nodulación y fijación de N acusa en primer lugar el tipo de suelo y luego la contaminación con Zn, como lo manifiesta la nodulación escasa en el caso del crecimiento en suelo básico.

Agradecimientos: Este trabajo fue realizado dentro del Proyecto AMB 1999-1218 (M^oCyT)

Bibliografía

- C.A.M. 1998. *Inventario y caracterización de suelos contaminados*. Informe técnico, n^o ref. 69/98. Técnicas de Protección Ambiental S.A., Madrid.
- Chaney, R.L. 1989. *Toxic element accumulation in soils and crops: protecting soil fertility and agricultural food-chains*. In Bar-Yosef, G., Barrow, N.H., Goldshmid, J. eds. Inorganic contaminants in wadose zone. Berlin, Springer-Verlag: 140-158.
- Fernández-Pascual, M., Pozuelo, J.M., Serra, M.T. and De Felipe, M. R. 1988.- Effects of Cyanazine and Linuron on Chloroplast Development, Nodule Activity and Protein Metabolism in *Lupinus albus* L. J.Plant Physiol. 133:288-294.
- Fernández-Pascual, M., De Lorenzo, C., De Felipe, M.R., Rajalakshmi, S., Gordon, A.J., Thomas, B.J., Minchin, F.R. 1996.- Possible reasons for relative salt stress tolerance in nodules of white lupin cv. Multolupa. J.Exp. Bot. 47: 1709-1716.
- Hernández, A.J. Pastor, J. 1989.- Técnicas analíticas para el estudio de interacciones suelo-planta.
- Hernández, A.J., Adarve, M.J. and Pastor, J. 1998. Some impacts of urban waste landfills on Mediterranean soils. Land Degradation Develop. 9:21-23.
- Reay, P.F. and Waugh, C. 1981.- Mineral-element composition of *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius* in relation to manganese accumulation. Plant Soil 60: 435-444.
- Ximénez-Embún, P., Madrid-Albarrán, Y., Cámara, C., Cuadrado, C., Burbano, C. and Múzquiz, M. 2001. Evaluation of *Lupinus* species to accumulate heavy metals from waste waters. Int. J. Phytoremediation. 3: 369-379.