

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS

TESIS DOCTORAL

Movilidad de metales pesados en sustratos de restos de
poda y biosólidos.

Ensayos de fitoextracción con *Rosmarinus officinalis* y
Atriplex halimus.

YASNA MARIELA TAPIA FERNÁNDEZ
2007

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS

TESIS DOCTORAL

Movilidad de metales pesados en sustratos de restos de
poda y biosólidos.

Ensayos de fitoextracción con *Rosmarinus officinalis* y
Atriplex halimus.

YASNA MARIELA TAPIA FERNÁNDEZ

DIRECTORES: Dr. Enrique Eymar Alonso
Dr. Alberto Masaguer Rodríguez

2007

Los profesores **ENRIQUE EYMAR ALONSO** y **ALBERTO MASAGUER RODRIGUEZ**, Profesores Titulares de Universidad de la Universidad Autónoma de Madrid y de la Universidad Politécnica de Madrid, como Directores de la Tesis Doctoral titulada: "*Movilidad de metales pesados en sustratos de restos de poda y biosólidos. Ensayos de fitoextracción con Rosmarinus officinalis y Atriplex halimus*", y realizada por la Licenciada Yasna Mariela Tapia Fernández,

AUTORIZAN la presentación de dicho trabajo de Tesis Doctoral para realizar los trámites correspondientes para su lectura y defensa.



Fdo: Dr. Enrique Eymar Alonso



Fdo: Dr. Alberto Masaguer Rodríguez

Madrid, 12 de noviembre 2007

INDICE

	RESUMEN	1
	ABSTRACT	3
1.	INTRODUCCION	5
1.1	Generación de residuos orgánicos restos de poda y biosólidos	5
1.2	Características físico-químicas y comportamiento de metales pesados en lodos de depuradoras	9
1.2.1	Componentes orgánicos en los lodos	11
1.2.2	Componentes inorgánicos en los lodos	14
1.2.3	pH y reacciones de acidificación en los lodos	14
1.3	Nutrición vegetal y metales pesados	15
1.4	Agentes quelantes,	16
1.5	Fitoextracción y fitoestabilización	19
1.6	Uso de compost de biosólidos como enmienda orgánica y sustratos de cultivo	22
2.	OBJETIVOS	24
3.	MATERIAL Y MÉTODOS	26
3.1	Caracterización físico-química de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	26
3.1.1	Selección de materiales	26
3.2	Caracterización físico-química de los materiales	27
3.2.1	Densidad aparente compactada de laboratorio, contenido de humedad y materia seca	27
3.2.2	Densidad aparente seca, volumen de aire, volumen de agua, valor de contracción y porosidad total de los materiales	29
3.2.3	Granulometría	32
3.3	Caracterización química de los materiales	33
3.3.1	pH, conductividad eléctrica y elemento soluble (Ca, Mg, Na, K, NO ₃ , P, Cl)	33
3.3.2	Materia orgánica y cenizas	35
3.3.3	Carbono orgánico total	36
3.3.4	Nitrógeno total	36
3.3.5	Capacidad de intercambio catiónico efectiva	37
3.3.6	Extracto húmico total e índice de humificación	38
3.3.7	Carbono hidrosoluble	39
3.3.8	Concentración total de metales pesados (Cu, Zn, Mn, Fe, Cd y Pb)	39
3.3.9	Resonancia Magnética Nuclear de ¹³ C en estado sólido (CPMAS RMN)	40
3.4	Estudio de la movilidad de metales pesados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	42
3.4.1	Pre-tratamiento de los materiales (adición de cadmio)	42
3.4.2	Fraccionamiento químico de metales pesados (Tessier)	43
3.4.3	Curva de desorción de cadmio	44

3.4.4	Selección de soluciones extractantes	45
3.5	Ensayo 1: Columnas de lixiviación de Cd y otros metales pesados desde compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	47
3.5.1	Diseño experimental y montaje de columnas de lixiviación	47
3.5.2	Análisis de lixiviados (Cd y otros metales pesados, macronutrientes, pH, conductividad eléctrica y absorbancias a 465nm y 665 nm)	49
3.5.3	Análisis del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino al final del ensayo de lixiviación	50
3.6	Ensayo 2: Selección de plantas tolerantes a crecer en sustrato contaminado con cadmio	51
3.6.1	Criterio de selección y descripción de plantas	51
3.6.2	Pretratamiento de sustrato	53
3.6.3	Diseño experimental	53
3.6.4	Riego y controles de cultivo en exterior	54
3.6.5	Análisis de la solución nutriente del sustrato extraída mediante sondas de succión rhizon y de lixiviados.	55
3.7	Ensayo 3: Evaluación de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino como sustrato de cultivo para <i>Rosmarinus officinalis</i>	57
		57
3.7.1	Tratamiento previo de lavado de compost de restos de poda+biosólidos	57
3.7.2	Diseño experimental y descripción de tratamientos (compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino)	59
3.7.3	Riego y controles del cultivo en invernadero	60
3.8	Ensayo 4: Movilidad de metales pesados en <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Atriplex halimus</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos	62
3.8.1	Diseño experimental y descripción de tratamientos (Hoagland y Hoagland+cítrico)	62
3.8.2	Riego y controles del cultivo en invernadero	63
3.8.3	Análisis de la disolución nutritiva y test enzimático de ácido cítrico	65
3.9	Digestión y análisis de muestras vegetales	68
3.9.1	Determinación de metales pesados y macronutrientes	68
3.9.3	Factor de bioacumulacion e índice de transporte a la parte aérea	69
3.10	Análisis estadísticos y programas informáticos utilizados	70

IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
4.1	Caracterización físico-química de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	71
4.1.1	Propiedades físicas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	71
4.1.2	Propiedades químicas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	74
4.1.3	Fraccionamiento químico de metales pesados (Tessier)	78
4.1.4	Resonancia Magnética Nuclear de ¹³ C en estado sólido (CPMAS RMN)	83
4.1.5	Curva de desorción de cadmio	85
4.1.6	Selección de extractantes	87
4.2	Ensayo 1: Columnas de lixiviación de Cd y otros metales pesados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	90
4.2.1	pH y conductividad eléctrica de los lixiviados	90
4.2.2	Macronutrientes lixiviados	94
4.2.3	Cd en lixiviados	97
4.2.4	Otros metales pesados lixiviados	100
4.2.5	Relación de absorbancias 465/665 en lixiviados	102
4.2.6	Resonancia magnética nuclear de ¹³ C en estado sólido (CPMAS RMN) del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino al final del ensayo de lixiviación de metales.	105
4.3	Ensayo 2: Selección de plantas tolerantes a crecer en sustrato contaminado con cadmio	107
4.3.1	Parámetros de crecimiento	107
4.3.2	Concentración y contenido de cadmio en plantas	109
4.3.3	Factor de bioacumulación e índice de transporte de cadmio a la parte aérea	113
4.4	Ensayo 3: Evaluación de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino como sustrato de cultivo para el <i>Rosmarinus officinalis</i>	115
4.4.1	Propiedades físico-químicas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	117
4.4.2	Solución nutriente del sustrato de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino extraída con sondas	118
4.4.3	Parámetros de crecimiento y desarrollo de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	121
4.4.4	Concentración de macronutrientes en planta	124
4.4.5	Concentración de metales pesados en planta	126
4.4.6	Contenido de metales pesados en planta	129

4.5	Ensayo 4: Movilidad de metales pesados en <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Atriplex halimus</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos.	133
4.5.1	Parámetros de crecimiento y desarrollo de las plantas	134
4.5.2	Seguimiento de la solución nutriente del sustrato y especiación química	136
4.5.3	Concentración de macronutrientes en planta	144
4.5.4	Concentración de metales pesados en planta	146
4.5.5	Factor de bioacumulación e índice de transporte de metales pesados a la hoja	152
4.5.6	Contenido de metales pesados en planta	154
5.	CONCLUSIONES	162
6.	BIBLIOGRAFÍA	164

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Destino estimado de los lodos de depuradora de aguas residuales a finales del año 2005 en España.	6
Tabla 2: Concentración máxima de metales pesados (mg kg^{-1}) en lodos considerados aceptables para su uso en agricultura.	8
Tabla 3: Límite de concentración de metales pesados en productos considerados como enmiendas orgánicas.	8
Tabla 4: Elementos químicos esenciales para las plantas.	15
Tabla 5: Principales interacciones entre microelementos que pueden afectar la asimilación por la planta.	16
Tabla 6: Algunos ácidos orgánicos usados como quelantes.	18
Tabla 7: Constante de estabilidad (LogK) de los quelatos del ácido cítrico.	19
Tabla 8: Especie química según el espectro determinado mediante RMN (Resonancia magnética nuclear de ^{13}C)	40
Tabla 9. Cadmio inicial adicionado y Cd total extraído (mg kg^{-1} de materia seca) con agua regia en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	43
Tabla 10: Composición de la disolución nutritiva Hoagland.	46
Tabla 11: Tratamientos de riego aplicados a cada columna.	48
Tabla 12: Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (%) media registrada en el umbráculo durante el ciclo de cultivo.	55
Tabla 13: Análisis de la solución nutriente extraída mediante sondas de succión y lixiviados del sustrato. Valores medio en los 70 días de ensayo de selección de plantas.	55
Tabla 14. Estimación del volumen diario de riego (ml) de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino durante el transcurso del ensayo.	60
Tabla 15: Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y humedad relativa (%) media registrados durante el período de crecimiento.	61
Tabla 16. Estimación del volumen diario de riego (ml) de compost de restos de poda+biosólidos para ensayo de movilidad de metales.	64
Tabla 17: Concentración de referencia de macronutrientes (%) y metales pesados (mg kg^{-1} materia seca) en parte aérea de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Atriplex halimus</i>.	65

Tabla 18: Disolución nutritiva de los tanques de riego.	66
Tabla 19: Concentración de ácido cítrico g L⁻¹ (como citrato) durante el ensayo.	67
Tabla 20: Condiciones de digestión de muestra vegetal en digestor de microondas (CEM, Mars Xpress).	68
Tabla 21: Condiciones de digestión de muestras vegetales en bloque digestor (Block Digest 12, Selecta).	69
Tabla 22: Características físicas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	72
Tabla 23: Distribución del tamaño de partículas (% p/p) en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	72
Tabla 24 Principales características hidrofísicas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	73
Tabla 25: pH, conductividad eléctrica (dS m⁻¹ 25°C) y elemento soluble (mg L⁻¹ de extracto saturado del sustrato) de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	75
Tabla 26: Contenido total de materia orgánica, nitrógeno, relación C/N, capacidad de intercambio catiónico, extracto húmico total y carbono hidrosoluble en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	75
Tabla 27: Concentración total de metales pesados (mg kg⁻¹ materia seca) en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	77
Tabla 28: Fraccionamiento químico de Cd (mg kg⁻¹ materia seca) en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino antes y después la adición de 200 mg Cd.	79
Tabla 29: Fraccionamiento químico de metales pesados en compost de restos de poda+biosólidos contaminados con 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca.	82
Tabla 30: Fraccionamiento químico de metales pesados en compost de corteza de pino contaminado con 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca.	82
Tabla 31: Área relativa (porcentaje del área total) de los grupos funcionales de la materia orgánica determinado por CPMAS RMN ¹³C para compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	83
Tabla 32: Cd extraído (%) y pH de los diferentes extractos para el compost de restos de poda+biosólidos contaminados con 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca. (1:5 v/v).	88
Tabla 33: Cd extraído (%) y pH de los diferentes extractos para el compost de corteza de pino contaminados con 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca (1:5 v/v).	88

Tabla 34: Concentración media y acumulativa de Cd en lixiviados (mg kg^{-1} materia seca) después de aplicar diferentes tratamientos de riego consecutivos a columnas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	98
Tabla 35: Cadmio adicionado, lixiviado y residual en mg kg^{-1} materia seca en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino al final del ensayo de columnas.	100
Tabla 36: Concentración media acumulativa de Cu, Mn, Fe y Zn en lixiviados ($\mu\text{g kg}^{-1}$ materia seca) después de aplicar diferentes tratamientos de riego en compost de restos de poda+biosólidos (sin adición de cadmio).	101
Tabla 37: Concentración media acumulativa de Cu, Mn, Fe y Zn en lixiviados ($\mu\text{g kg}^{-1}$ materia seca) después de aplicar diferentes tratamientos de riego en compost de corteza de pino (sin adición de cadmio).	102
Tabla 38. Variación del área relativa (% de área total) de los grupos funcionales de la materia orgánica de compost de restos de poda+biosólidos, determinado por CPMAS ^{13}C RMN, antes y después del ensayo de columnas de lixiviación.	106
Tabla 39. Variación del área relativa (% de área total) de los grupos funcionales de la materia orgánica de corteza de pino, determinado por CPMAS ^{13}C RMN,, antes y después del ensayo de columnas de lixiviación.	106
Tabla 40 : Peso seco (g) de parte aérea después de 70 días de crecimiento en sustrato con cadmio y control.	108
Tabla 41: Peso seco (g) de la raíz después de 70 días de crecimiento en sustrato con cadmio y control.	108
Tabla 42: Altura (cm) de parte aérea después de 70 días de crecimiento en sustrato con cadmio y control.	108
Tabla 43: Relación peso seco parte aérea/raíz después de 70 días de crecimiento en sustrato con cadmio y control.	109
Tabla 44: Concentración total de cadmio (mg kg^{-1} materia seca) en hoja, tallo y raíz de las plantas cultivadas en sustrato con 100 mg kg^{-1} materia seca a 35 y 70 días de ensayo.	110
Tabla 45: pH, conductividad eléctrica (dS m^{-1} 25°C) y nutrientes en extracto saturado (mg L^{-1}) del compost de restos de poda+biosólidos antes y después del lavado.	116
Tabla 46: Concentración total de metales pesados (mg kg^{-1} materia seca) del compost de restos de poda+biosólidos antes y después del lavado.	117
Tabla 47: pH, conductividad eléctrica (dS m^{-1} 25°C) y nutrientes (mg L^{-1}) en extracto 1:5 de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	117
Tabla 48: Concentración total de metales pesados (mg kg^{-1} materia seca) en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	118

Tabla 49: Peso fresco (g) parte aérea de <i>Rosmarinus officinalis</i> en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	122
Tabla 50: Peso seco hoja, tallo y raíz (g) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	123
Tabla 51: Concentración de macronutrientes en hoja (%) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	124
Tabla 52: Concentración de macronutrientes en raíz (%) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	125
Tabla 53: Concentración total de metales pesados en mg kg ⁻¹ de hoja de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	127
Tabla 54: Concentración total de metales pesados en mg kg ⁻¹ de tallo de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	128
Tabla 55: Concentración total de metales pesados en mg kg ⁻¹ de raíz de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	129
Tabla 56: Contenido de metales pesados en hoja (µg) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	130
Tabla 57: Contenido de metales pesados en tallo (µg) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino	131
Tabla 58: Contenido de metales pesados en raíz (µg) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	131
Tabla 59: Peso fresco (g) y altura (cm) de parte aérea en <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	134
Tabla 60: Peso seco hoja, tallo y raíz (g) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	134
Tabla 61: Peso fresco (g) y altura (cm) de parte aérea en <i>Atriplex halium</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	135
Tabla 62: Peso seco hoja, tallo y raíz (g) de <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	135
Tabla 63: Media de la concentración de metales pesados solubles (mg L ⁻¹) en la solución nutriente del sustrato extraída con sondas de succión rizhon para <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Atriplex halimus</i> al final del ensayo.	136

Tabla 64: Especiación química teórica de la solución nutriente del sustrato extraída mediante sondas de succión rhizon para el tratamiento de riego Hoagland+cítrico (Programa de especiación MINTEQ).	142
Tabla 65: Concentración de macronutrientes en hoja (%) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	144
Tabla 66: Concentración de macronutrientes en raíz (%) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	145
Tabla 67: Concentración de macronutrientes en hoja (%) de <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	146
Tabla 68: Concentración de macronutrientes en raíz (%) de <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	146
Tabla 69: Concentración de Cd en hoja ($\mu\text{g kg}^{-1}$ m.s) de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.	147
Tabla 70: Concentración total de metales pesados en hoja (mg kg^{-1} m.s) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	148
Tabla 71: Concentración total de metales pesados en tallo (mg kg^{-1} m.s) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	148
Tabla 72: Concentración total de metales pesados en raíz (mg kg^{-1} m.s) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	148
Tabla 73: Concentración total de metales pesados en hoja (mg kg^{-1} m.s) de <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	149
Tabla 74: Concentración total de metales pesados en tallo (mg kg^{-1} m.s) de <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	149
Tabla 75: Concentración total de metales en raíz (mg kg^{-1} m.s) de <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	149
Tabla 76: Factor de bioacumulación (metal hoja mg kg^{-1} /metal en sustrato mg kg^{-1}) en <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.	152

Tabla 77: Factor de bioacumulación (metal hoja mg kg⁻¹/metal en sustrato mg kg⁻¹) en <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.	152
Tabla 78: Índice de transporte de metal a la hoja (metal hoja mg kg⁻¹/metal raíz mg kg⁻¹) en <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.	153
Tabla 79: Índice de transporte de metal a la hoja (metal hoja mg kg⁻¹/metal raíz mg kg⁻¹) en <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.	153
Tabla 80: Contenido de metales pesados en hoja (µg) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	155
Tabla 81: Contenido de metales pesados en tallo (µg) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	155
Tabla 82: Contenido de metales pesados en raíz (µg) de <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	155
Tabla 83: Contenido de metales en hoja (µg) de <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	156
Tabla 84: Contenido de metales en tallo (µg) de <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	156
Tabla 85: Contenido de metales en raíz (µg) de <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.	156
Tabla 86: Incremento en el contenido de metales pesados (%) en parte aérea de <i>Rosmarinus officinalis</i> por aplicación de tratamiento Hoagland+cítrico en compost de restos de poda+biosólidos.	157
Tabla 87: Incremento en el contenido de metales pesados (%) en parte aérea de <i>Atriplex halimus</i> por aplicación de tratamiento Hoagland+cítrico en compost de restos de poda+biosólidos.	157

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Evolución de la generación de lodos de depuradora en España (fuente: Ministerio del Medio Ambiente, 2006).	6
Figura 2: Influencia del pH en la carga superficial de los componentes orgánicos (Stevenson, 1994).	12
Figura. 3: Estructura del DTPA(ácido dietiltri Aminopentaacético)	19
Figura 4: Esquema de la disposición de los tanques de riego para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.	64
Figura 5: Distribución del tamaño de partículas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.	73
Figura 6: Fraccionamiento químico del cadmio en compost de restos de poda+biosólidos a) tratamiento 0 Cd (control) y b) tratamiento de adición de 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca.	80
Figura 7: Fraccionamiento químico del cadmio en compost de corteza de pino a) tratamiento 0 Cd (control) y b) tratamiento de adición de 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca.	80
Figura. 8: CPMAS RMN de ¹³C de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino. Las flechas indican las principales diferencias en los desplazamientos químicos entre ambos materiales.	84
Figura 9: Curva de desorción de cadmio de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino conteniendo 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones	86
Figura 10: Evolución del pH de los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino en los lixiviados tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca, y regados con agua destilada(30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+cítrico (5 días); Hoagland+cítrico+zinc (5 días) y DTPA-CaCl₂: ácido dietiltri Aminopentaacético-cloruro cálcico (5 días).	91
Figura 11: Evolución del conductividad eléctrica (CE) (dS m⁻¹ 25°C) de los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino en los lixiviados tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca, y regados con agua destilada (30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+cítrico (5 días); Hoagland+ cítrico+zinc (5 días) y DTPA-CaCl₂: ácido dietiltri Aminopentaacético-cloruro cálcico (5 días).	93
Figura 12: Evolución del Ca, Mg y K (mg L⁻¹) en los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca, y regados con agua destilada (30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+ (5 días); Hoagland+cítrico+zinc (5 días).	95

Figura 13: Evolución del Ca, Mg y K (mg L ⁻¹) en los lixiviados del compost de corteza de pino tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg ⁻¹ de materia seca, y regados con agua destilada (30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+ cítrico (5 días); Hoagland+ácido cítrico+zinc (5 días).	96
Figura 14. Evolución del Cd (mg L ⁻¹) en los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg ⁻¹ de materia seca, y regados con agua destilada (30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+ácido cítrico (5 días); Hoagland+ácido cítrico+zinc (5 días) y DTPA-CaCl ₂ : ácido dietilentriaminopentaacético-cloruro cálcico (5 días).	99
Figura 15: Evolución del cociente de entre absorbancia 465 nm/ absorbancia 665 nm de los lixiviados de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino cuando fueron regados con agua destilada.	104
Figura 16: Incremento de peso parte aérea (%) de plantas cultivadas en sustrato con 0 mg Cd (control) y con 100 mg Cd Kg ⁻¹ m.s., al final del ensayo. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	109
Figura17: Contenido de cadmio (µg) en plantas cultivadas en sustrato con 100 mg Cd kg ⁻¹ de materia seca. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	112
Figura 18: Factor de bioacumulación e índice de transporte la parte aérea de cadmio para las diferentes especies vegetales cultivadas en sustrato contaminado con 100 mg Cd kg ⁻¹ materia seca. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan (p= 0,05). Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	114
Figura 19: Evolución del pH de la solución nutritiva del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino fertirrigados con Hoagland diluida al 50% y extraída con sondas de succión rhizon. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	119
Figura 20: Evolución de la conductividad eléctrica (dS m ⁻¹ 25°C) de la solución nutriente de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino fertirrigados con Hoagland diluida al 50% y extraída con sondas de succión rhizon. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	119
Figura 21: Evolución de la concentración de Ca, K y Mg (mg L ⁻¹) en la solución nutriente de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino fertirrigados Hoagland diluida al 50% y extraída con sondas de succión rhizon. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	120
Figura 22: Evolución del peso seco de <i>Rosmarinus officinalis</i> en hoja cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y en compost de corteza de pino. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan (p= 0,05). Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	123
Figura 23: Concentración de macronutrientes en hoja (%) en <i>Rosmarinus</i>	126

<i>officinalis</i> al final del ensayo, junio 2007, cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p= 0,05$). Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	
Figura 24: Evolución de pH de la solución nutriente del compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico para <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Atriplex halimus</i> . Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	138
Figura 25: Evolución de la conductividad eléctrica (dS m^{-1} 25°C) de la solución nutriente del compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico para <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Atriplex halimus</i> . Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	139
Figura 26: Evolución de Ca, K y Mg (mg L^{-1}) de la solución nutriente del compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico para <i>Rosmarinus officinalis</i> . Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	140
Figura 27: Evolución de Ca, K y Mg (mg L^{-1}) de la solución nutriente del del compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico para <i>Atriplex halimus</i> . Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	141
Figura 28: Contenido de metales pesados ($\mu\text{g}/\text{parte aérea}$) en <i>Rosmarinus officinalis</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p= 0,05$). Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	158
Figura 29: Contenido de metales pesados ($\mu\text{g}/\text{parte aérea}$) en <i>Atriplex halimus</i> cultivado en compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p= 0,05$). Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.	159

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1: Columnas para estudiar lixiviación (Eymar et. al, 2002).	47
Fotografía 2: Cambio de papel de filtro de las columnas de lixiviación.	49
Fotografía 3: Contenedores para recolectar lixiviados de plantas cultivadas en compost de corteza de pino contaminado con 100 mg Cd kg ⁻¹ materia seca.	54
Fotografía 4: Aspecto general del ensayo de selección de plantas cultivadas en compost de corteza de pino+100 mg Cd kg ⁻¹ materia seca (izquierda) y control (sin adición de cadmio) (derecha).	54
Fotografía 5: Sondas de succión rhizon empleadas para obtener muestra <i>in situ</i> de la solución nutriente del sustrato.	56
Fotografía 6: <i>Rosmarinus officinalis</i> . Efecto de la elevada salinidad inicial del compost de restos de poda + biosólidos (izquierda)	57
Fotografía 7: <i>Atriplex halimus</i> . Efecto de la elevada salinidad inicial del compost de restos de poda+biosólidos (derecha).	58
Fotografía 8: Lavado del compost de restos de poda+biosólidos.	58
Fotografía 9: Control de pH y conductividad eléctrica de los lixiviados durante el lavado.	58
Fotografía 10: Aspecto de <i>Rosmarinus officinalis</i> en el tratamiento compost de corteza de pino.	59
Fotografía 11: <i>Rosmarinus officinalis</i> . Control de humedad con tensiómetro y de la solución nutriente del sustrato de mediante sondas de succión rhizon.	63
Fotografía 12: Tanque 3 del ácido cítrico y bombas centrífugas del sistema de riego.	63
Fotografía 13. Aspecto inicial del ensayo. <i>Atriplex halimus</i> . Diciembre 2006.	65
Fotografía 14: Color de lixiviados al inicio del ensayo, en compost de restos de poda+biósólidos (derecha) y compost de corteza de pino (izquierda).	103
Fotografía 15: Aspecto de a) <i>Atriplex halimus</i> , b) <i>Rhamnus alaternus</i> c) <i>Rosmarinus officinalis</i> d) <i>Phillyrea angustifolia</i> cultivados en sustrato control (sin adición de cadmio) y en sustrato contaminado con 100 mg Cd kg ⁻¹ m.s.	111
Fotografía 16: Aspecto de <i>Rosmarinus officinalis</i> al final del ensayo cultivado en compost de restos de poda+biosólidos (derecha) y compost de corteza de pino (izquierda) y aspecto de las raíces de la planta cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos (superior der.) y en compost de corteza de pino (inferior der.)	122

Fotografía 17: Aspecto del <i>Rosmarinus officinalis</i> al final del ensayo, junio 2007, cultivado en compost de restos de poda+biosólidos (izquierda) y compost de corteza de pino (derecha).	132
Fotografía 18. Aspecto de las plantas al final del ensayo. <i>Rosmarinus officinalis</i> (izquierda) y <i>Atriplex halimus</i> (derecha).	136
Fotografía 19: Aspecto de las plantas de <i>Rosmarinus officinalis</i> y <i>Atriplex halimus</i> al final del ensayo de movilidad de metales pesados. Junio 2007.	161

RESUMEN

La problemática medioambiental que plantea la generación creciente de residuos orgánicos en las grandes ciudades, en especial restos de poda de jardinería urbana y lodos de depuradora de agua residuales o biosólidos, necesita de una urgente valorización de forma eficaz, para minimizar el impacto que causa el depósito de estos residuos en vertedero. Uno de los principales factores limitantes a la hora de valorizar los biosólidos es su contenido de sustancias contaminantes como son los metales pesados.

El presente trabajo tiene como objetivos evaluar la movilidad y biodisponibilidad de metales pesados en compost de restos de poda+biosólidos, valorizar su uso como sustrato de cultivo en contenedor, y también evaluar la capacidad de fitoextractora de metales pesados de las plantas de *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* cuando son cultivadas en este sustrato.

Se seleccionaron dos materiales orgánicos provenientes de residuos urbanos (compost de restos de poda+biosólidos) y residuos forestales (compost de corteza de pino). Previamente se realizaron una serie de caracterizaciones físico-químicas, químicas e hidrofísicas de los materiales poniendo especial énfasis en los metales pesados, mediante determinaciones que permitieron estimar la movilidad, biodisponibilidad y lixiviación. El compost de restos de poda+biosólidos presentó una concentración mucho mayor de metales pesados que el compost de corteza de pino, pero sin sobrepasar los límites establecidos para el uso agronómico de estos materiales.

Para llevar a cabo los objetivos se realizaron 4 ensayos. El primer ensayo se realizó mediante columnas de lixiviación, en condiciones de laboratorio, donde a los materiales se les adicionó cadmio, como metal modelo, en concentraciones contaminantes y fueron aplicadas distintas disoluciones de riego. Una vez evaluada la lixiviación de cadmio y de otros metales pesados, se plantearon los ensayos con planta en condiciones de invernadero. En el segundo ensayo, se seleccionaron plantas perennifolias, autóctonas de la zona mediterránea y tolerantes a crecer en medio contaminado con metal pesado. Para ello, se cultivaron plantas de *Atriplex halimus*, *Phillyrea angustifolia*, *Rhamnus alaternus* y *Rosmarinus officinalis* en sustrato de compost de corteza de pino, donde el cadmio adicionado se presentó altamente biodisponible. Seleccionadas las plantas de *Rosmarinus officinalis* y el *Atriplex halimus*, se llevo a cabo el tercer ensayo, para evaluar el compost de restos de poda+biosólidos como sustrato de cultivo de *Rosmarinus officinalis* en contenedor debido a que esta especie tiene un gran interés desde el punto ornamental, alimentario y

medicinal. El compost de restos de poda+biosólidos se utilizó sin mezcla con otros componentes y con contenido de metales pesados naturalmente presentes en el material. Se compararon resultados con el sustrato de corteza de pino. Finalmente en el cuarto ensayo, para evaluar la capacidad fitoextractora de plantas de *Rosmarinus officinales* y *Atriplex halimus*, el sustrato de compost de restos de poda+biosólidos fue regado en forma continua con ácido cítrico y disolución nutritiva.

Los resultados de los ensayos realizados permiten señalar que el compost de restos de poda+biosólidos es un material con una alta capacidad retención de metales pesados, comparado con el compost de corteza de pino. Las principales características que contribuyeron a esta capacidad fueron un alto valor de pH, un mayor grado de humificación y una mayor capacidad de intercambio catiónico, atribuida a una mayor composición de grupos carboxilos que presentó este material. Los metales pesados, cadmio y plomo se encontraron principalmente asociados a la fracción orgánica.

Respecto a su utilización como sustrato de cultivo en contenedor, el compost de restos de poda+biosólidos resultó ser un material adecuado para el *Rosmarinus officinalis*, previa corrección de la salinidad.

La aplicación continua de ácido cítrico al sustrato de compost de restos de poda+biosólidos, produjo un aumento significativo en el contenido en hoja de manganeso, hierro y cobre, para el *Rosmarinus officinalis*, y manganeso para el *Atriplex halimus*. Sin embargo, considerando el tiempo de aplicación de 2 meses, el ácido cítrico resultó tener un bajo grado de eficiencia para movilizar metales en este sustrato.

El *Atriplex halimus* resultó ser una planta con una gran capacidad de traslocar metales desde la raíz a la hoja, siendo una especie recomendable para su uso en técnicas de fitorremediación de suelo contaminados.

ABSTRACT

The environmental problematic posed by the increase generation of organic wastes in large cities, particularly yard trimmings of gardening and urban sewage sludge or biosolids, is in urgent need of recovery in an effective manner, to minimize the impact caused by the these deposit waste in the landfill. One of the major limiting factors in the value biosolids is the content of pollutants such as heavy metals. This study aims to evaluate the mobility and bioavailability of heavy metals in composted yard trimmings+biosolids, make its use as a growing media in a container, and also assess the ability for phytoextraction of heavy metals in plants of *Rosmarinus officinalis* and *Atriplex halimus* when they are grown in this growing media.

Two materials were selected from organic waste (compost of yard trimmings+biosolids) and forest residues (compost of pine bark). Physicochemical characterizations and hydro-chemical materials were determined with special emphasis on heavy metals, to including determination by estimating the mobility and bioavailability leaching. The compost of yard trimmings+biosolids have a much higher concentration of heavy metals that composted pine bark, but not beyond the limits established for the agronomic use of these materials.

To carry out the objectives were performed 4 experiments. The first trial was conducted through leaching columns, in laboratory conditions, where the materials were added cadmium, as metal model pollutant concentrations and in different solutions were applied irrigation. Once evaluated the leaching of cadmium and other heavy metals, were conducted the experiments with plants in greenhouse conditions. In the second experiment, we selected perennial plants, native to the Mediterranean area and tolerant to growing media contaminated with heavy metal. Plants were grown *Atriplex halimus*, *Phillyrea angustifolia*, *Rhamnus alaternus* and *Rosmarinus officinalis* in growing media of composted pine bark, which was presented cadmium added highly bioavailable. Selected plants *Rosmarinus officinalis* and *Atriplex halimus*, in the third experiments to evaluate the compost of yard trimmings + biosolids as a growing media in container for *Rosmarinus officinalis* because this species has a great interest from the point ornamental, nutritional and medicinal. Composted of yard trimmings + biosolids was used without mixing with other ingredients and containing heavy metals naturally present in the material. Results were compared with pine bark.

Finally in the fourth experiment, to evaluate ability for phytoextraction of *Rosmarinus officinalis* and *Atriplex halimus*, growing media of yard trimmings + biosolids was sprinkled on a continuous basis with citric acid dissolution and nutritious.

The results of these experiments allow note that the compost of yard trimmings + biosolids is a material with a high capacity retention of heavy metals, compared with composted pine bark. The main features that contributed to this capability was a high pH value, a higher degree of humification and increased cation exchange capacity, attributed to greater composition of carboxyl groups submitted this material. Heavy metals, cadmium and lead were found mainly associated with the organic fraction.

Its use as a substrate for growing media in a container, compost of yard trimmings + biosolids proved to be a good material for *Rosmarinus officinalis*, after correction for salinity.

The continuing addition of citric acid compost yard trimmings + biosolids a significant increase in the leaf content of manganese, iron and copper, for *Rosmarinus officinalis*, and manganese for *Atriplex halimus*. However, considering the time of application for 2 months, citric acid proved to be a low degree of efficiency to mobilize metals in this substrate.

Atriplex halimus proved to be a plant with high ability for translocate the heavy metals from roots to leaves. This plant is a species is suitable for use in technical phytoremediation of contaminated soil.

1. INTRODUCCION

1.1. GENERACIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS: RESTOS DE PODA Y BIOSÓLIDOS

La generación creciente de materiales residuales orgánicos, en especial restos de poda y biosólidos, es un problema medioambiental común en la mayoría de las grandes ciudades; siendo una necesidad urgente valorizar de forma eficaz este tipo de residuos, para minimizar el impacto que causa su depósito en vertedero (Ministerio del Medio Ambiente, 2001).

Los restos de poda, se generan como consecuencia del mantenimiento de árboles de alineación, parques y jardines. La ciudad de Madrid cuenta con una superficie de más de 5000 hectáreas de zonas verdes y aproximadamente 270.000 árboles de alineación de calles. El total de las áreas verdes de Madrid genera una producción anual de desechos vegetales de alrededor de 70.000 toneladas, pertenecientes a parques y jardines, públicos y privados. De ese total, unas 45.000 corresponden a restos de siega, hojas caídas y poda de arbustos, mientras que las otras 25.000 proceden de restos de poda de árboles urbanos. Dentro de este último grupo se puede incluir un pequeño porcentaje de restos de material forestal procedente de la limpieza de montes de la Sierra de Madrid. La ciudad de Madrid genera 20.000 toneladas de residuos verdes de los cuales el 60-70% es material de madera, pino, plátano, olmo y castaño y el resto procede de hojas y limpieza de céspedes. (López-Cuadrado et. al., 2006).

Los biosólidos o lodos de depuradora, son residuos procedentes de las estaciones de depuradora de aguas residuales (EDAR). Se estima que en España, el 2005, se generaron alrededor de unas 1.119.741 toneladas de lodos de depuradoras (en materia seca) lo que indica que la producción de lodos se ha incrementado en un 39% entre 1997 y 2005 (Figura 1).

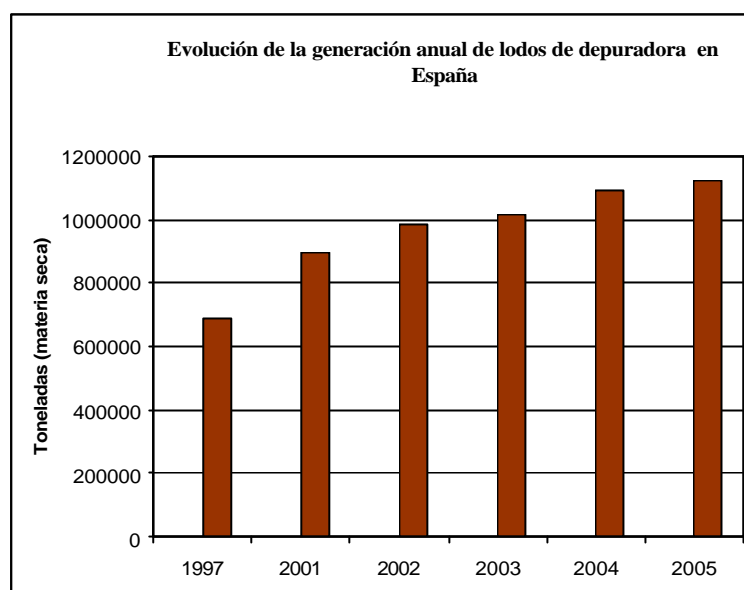


Figura 1: Evolución de la generación de lodos de depuradora en España (fuente: Ministerio del Medio Ambiente, 2006).

Las comunidades que más generaron estos residuos fueron Cataluña, Madrid y Valencia. Se estima que un 65% de los lodos se destinó a uso agrícola en el año 2005 (tabla 1). (Ministerio del Medio Ambiente, 2001).

Tabla 1: Destino estimado de los lodos de depuradora de aguas residuales a finales del año 2005 en España.

Destino	Porcentaje %
Uso agrícola y conservación de suelos con lodos tratados (no compostados)	40
Uso agrícola y conservación de suelos (previo compostaje)	25
Incineración (con recuperación de energía)	20
Depósito en vertedero	15
Total	100

Fuente: Ministerio del Medio Ambiente, 2001.

Se considera que la opción más sostenible para los lodos de depuradora es el reciclaje de nutrientes y materia orgánica mediante su aplicación a suelo (Ministerio del

Medio Ambiente, 2001). La principal preocupación en el uso agrícola de los lodos de depuradora, está en su contenido en sustancias tóxicas en especial de metales pesados y patógenos (Sánchez-Monedero, 2004). Los lodos de depuradora son una de las principales fuentes de contaminación de cadmio en suelos (Alloway, 1995; McLaughlin, 1999; Porta, 2003). El cadmio es quizás el metal de mayor interés en suelos y plantas, debido a su alta toxicidad, mayor movilidad y biodisponibilidad que otros metales (Lehmann y Rebele, 2004). Los estudios de sustentabilidad del uso de estos residuos urbanos en agricultura, requieren modelos de comportamiento químico de este metal, relacionados con la absorción que puede hacer la planta y la cantidad presente en los lixiviados (McLaughlin, 1999).

La procedencia de los metales pesados encontrados en las aguas residuales urbanas es variada y está estrechamente relacionada a las actividades industriales que se desarrollan en cada ciudad, asociándose las fuentes de contaminación a pequeñas industrias establecidas en zonas urbanas o en polígonos industriales carentes de plantas de tratamiento o a vertidos ilegales a la red de alcantarillado de aceites lubricantes, pinturas, colorantes, pilas, etc. También se puede considerar otras vías de contaminación como la proveniente del arrastre por la limpieza de calles o por las aguas pluviales que arrastran, por ejemplo los metales provenientes de procesos de corrosión de tuberías y depósitos metálicos.

Sin embargo en la actualidad se tiende a la disminución de la concentración de metales pesados en los lodos debido a los pre-tratamientos a los que se someten las aguas industriales (Soler y Polo, 1998). Las concentraciones de Ni, Pb, Zn y Cr en los lodos de depuradora han disminuido según el reciente informe del Ministerio de Medio Ambiente (2006).

Los límites de metales pesados permitidos por la legislación para uso agrícola de los lodos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Concentración máxima de metales pesados (mg kg⁻¹) en lodos considerados aceptables para su uso en agricultura.

Metal mg kg ⁻¹ materia seca	USEPA Límite máximo	España (R.D. 1310/90)		Rango Europeo	Directiva 86/278/CEE
		Suelos pH <7	Suelos pH >7		
Cd	85	20	40	10-40	20-40
Cu	4300	1000	1750	500-1750	1000-1750
Ni	420	300	400	100-400	300-400
Pb	840	750	1200	300-1200	750-1200
Zn	7500	2500	4000	2000-4000	2500-4000
Hg	57	16	25	10-25	16-25
Cr	3000	1000	1500	500-1500	

Fuente: Soler y Polo, 1998.

La legislación relativa a fertilizantes (R.D 824/2005) define como enmienda orgánica a la procedente de materiales carbonados de origen vegetal o animal, utilizada fundamentalmente para mantener o aumentar el contenido de materia orgánica del suelo, mejorar sus propiedades físicas y mejorar también sus propiedades o actividad química o biológica, incluye a los lodos de depuradora previamente tratados, siempre y cuando no superen el contenido de metales pesados indicados en la tabla 3.

Tabla 3: Límite de concentración de metales pesados en productos considerados como enmiendas orgánicas.

Metal pesado	Límite de concentración		
	sólidos mg kg ⁻¹ de materia seca		
	líquidos mg kg ⁻¹		
	Clase A	Clase B	Clase C
Cadmio	0,7	2	3
Cobre	70	300	400
Níquel	25	90	100
Plomo	45	150	200
Zinc	200	500	1000
Mercurio	0,4	1,5	2,5
Cromo (total)	70	250	300
Cromo (VI)	0	0	0

Fuente: R.D. 824/2005

1.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y COMPORTAMIENTO DE METALES PESADOS EN LODOS DE DEPURADORA

Las propiedades físico-químicas de los lodos son fundamentales para evaluar la movilidad de metales. Dependiendo de estas propiedades la matriz de los lodos puede actuar como fuente y a la vez como fijadora de metales (Merrington et. al, 2003).

Tal como en el suelo, la adsorción de metales desde la fase líquida sobre la fase sólida es el proceso químico más importante que afecta el comportamiento y biodisponibilidad de metales. El pH de la solución del suelo es el factor más dominante en los procesos de adsorción. Se ha visto que la adsorción de Cd aumenta significativamente con el aumento del pH (McLaughlin y Singh, 1999).

Las propiedades físico-químicas de los lodos pueden afectar la disponibilidad de los metales en forma directa o indirecta. Los efectos directos incluyen el contenido de metal del lodo y la capacidad de adsorción de los componentes orgánicos y componentes inorgánicos. Los efectos indirectos incluyen el pH, capacidad de intercambio catiónico, N mineralizable y fuerza iónica. El efecto de la salinidad de los lodos sobre la disponibilidad de metales, puede ser importante en particular en caso del Cd. Los lodos pueden tener altas conductividades eléctricas (mayor a 12 dS m^{-1}) y aunque con el tiempo pueden reducir su contenido en sal, pueden persistir relativamente altos niveles. Los cloruros pueden aumentar la movilidad del cadmio (Merrington et. al, 2003).

La disponibilidad de metales en los lodos está estrechamente relacionada con el contenido. En ensayos con lodos donde se ha adicionado distintas cantidades de cadmio se ha visto que las plantas toman más cadmio desde el lodo que tiene un mayor contenido de metal (Merrington et. al, 2003).

Existe debate sobre cual fracción la orgánica o inorgánica de los lodos es responsable de la retención de metales (Li et. al., 2001; Stacey et. al 2001; Bolan et. al., 2003; Merrington et. al, 2003). La especiación química o la extracción secuencial (Tessier) de los metales pesados en los lodos es una técnica analítica útil para determinar la forma química en que el metal esta presente. Esta información permite predecir la movilidad, biodisponibilidad y lixiviación de los metales desde los lodos (Walter, et. al., 2006).

La extracción secuencial de Tessier, en principio para suelos y sedimentos, fue adoptada para lodos (Scancar et. al, 2000; Alonso et., al 2002; Walter et. al., 2006) y se basa en que el metal se pueden encontrar bajo diferentes fracciones más o menos definidas:

1. **Fracción I: soluble en agua**: en general los metales se encuentran solubles pequeñas concentraciones.
2. **Fracción II: intercambiable** (iones atraídos por las cargas eléctricas de las partículas del suelo): en forma cambiante se encuentran cantidades mucho más importantes de metales (Fe, Zn, Mn, Cu).
3. **Fracción III: de los minerales secundarios, arcillosos y los óxidos metálicos insolubles**: en el caso del Fe y Mn representan cantidades importantes que en parte puede llegar a ser asimilable.
4. **Fracción IV: absorbida, quelatada o ligada** formando complejos con la materia orgánica: los metales en esta fracción se pueden encontrar en cantidades importantes y asimilabilidad variable para la planta.
5. **Fracción V: de los minerales primarios**: los metales que han penetrado en las estructuras de los minerales arcillosos constituyen una fracción de una asimilabilidad mínima para la planta.

La metodología de especiación de metales pesados en suelos comprende varias etapas de extracción química en las que se utilizan reactivos de distinta fuerza para separar las especies metálicas en diferentes fracciones. Se han aplicado sobre diferentes materiales y en distintas líneas de investigación como estudios de especiación de metales pesados en sedimentos contaminados, asociación de metales pesados en distintos componentes del suelo, distribución y comportamiento de metales pesados en suelos agrícolas, contenidos y distribución de metales pesados en lodos de depuradora y compost, distribución y comportamiento en suelos afectados por actividades industriales, etc. (Illera, 1998).

Los resultados obtenidos de extracción secuencial concuerdan con los obtenidos en ensayos de lixiviación de metales mediante columnas (Song y Greenway et. al., 2003). Los experimentos en columnas de lixiviación han sido utilizados para simular las capas del suelo resultando muy útiles para el estudio de la movilidad de agentes

contaminantes de origen orgánico e inorgánico (Eymar et. al, 2002) y para estudiar el efecto de diferentes soluciones de riego sobre la movilidad del metales pesados (Anderson et. al., 2000).

1.2.1. Componentes orgánicos en los lodos.

Algunos trabajos han atribuido a los componentes orgánicos de los lodos la capacidad de inmovilizar metales (Shuman et. al., 2002; Bolan et. al., 2003). Pero esta inmovilización puede ser alterada por procesos de formación de complejos organometálicos solubles y la pérdida de la capacidad de complejación por la degradación de la materia orgánica. Generalmente la fase inicial de ataque microbiológico de la materia orgánica más lábil es rápida (algunas semanas, dependiendo de las condiciones). Luego es seguida por una fase recalcitrante de la materia orgánica que es mucho más lenta. El tiempo que permanece esta fracción recalcitrante (algunas estimaciones sugieren alrededor de 20 años) y el efecto que tiene en la disponibilidad y la movilidad de metales en los lodos son cuestiones que están en plena discusión. (Stacey, et. al., 2001; Merrington et. al, 2003).

Un mayor grado de humificación de la materia orgánica puede contribuir significativamente a reducir la solubilidad y movilidad de los metales pesados (Halim et. al., 2003). Las sustancias húmicas comprenden una serie de ácidos, amarillos a negros de moderadamente alto peso molecular, formados por reacciones de síntesis secundaria donde intervienen microorganismos (Alloway, 1995). En general, las sustancias húmicas (particularmente ácidos húmicos) forman compuestos que son la mayoría insolubles y las sustancias no húmicas (aminoácidos, carbohidratos, ácidos orgánicos, grasas y ceras) pueden formar complejos solubles con los metales pesados (Stevenson, 1994).

Las sustancias húmicas constan de una amplia variedad de grupos funcionales entre los cuales están carboxilo, fenólicos, carbonilo, posiblemente quinonas entre otros. Los grupos que se relacionan con la formación de complejos con metales son hidroxilo, fenólicos y carboxilos, siendo el grupo carboxilo el más predominante en complejar metales (Alloway, 1995).

Una propiedad importante del humus es su elevada capacidad de intercambio catiónico. Uno de los grupos más importantes es el carboxilo (-COOH).

Durante la humificación de la materia orgánica, la lignina es alterada en tal forma que se registra una disminución en los grupos que no intercambian cationes ($-\text{OCH}_3$) y un incremento de los grupos carboxílicos que intercambian cationes (Foth, 1986). La carga superficial de los componentes de la materia orgánica es negativa y variable, de tal modo que la capacidad de adsorción de metales aumenta marcadamente con el pH. (Vázquez, 2006) (figura 2).

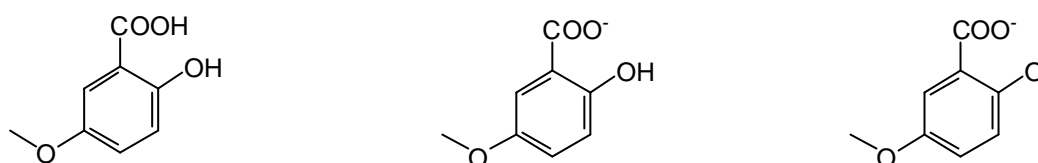


Figura 2: Influencia del pH en la carga superficial de los componentes orgánicos (Stevenson, 1994).

Los grupos COO^- tanto de la materia orgánica sólida como en la disuelta, pueden formar complejos estables con metales. Los sitios cargados (básicamente COO^-) permiten que la materia orgánica retenga los cationes en forma no lixiviables, sino intercambiables formando enlaces electrostáticos o parcialmente covalentes (Bohn, 1985) o también uniones más fuertes (complejos de esfera interna o quelatos) (Porta, 2003).

En varios trabajos relacionados con altos niveles de Cd ($100\text{-}2000 \text{ mg kg}^{-1}$), se ha definido la capacidad de intercambio catiónico como un parámetro controlador (McLaughlin y Singh, 1999). Lee et. al, (2004) encontraron que en suelos con una mayor capacidad de intercambio catiónico y contenido de carbono se adsorbe más cadmio.

Algunos tipos de componentes orgánicos de bajo peso molecular como polifenoles, ácidos alifáticos, aminoácidos y algunos azúcares constituyen el carbono orgánico disuelto (DOC). El DOC permanece disuelto en la solución del suelo en condiciones naturales y mantiene el equilibrio de metales en la solución a valores neutros de pH. El DOC, tiene como función reducir la adsorción de metales en la superficie del suelo formando complejos órgano-metálicos solubles (Antoniadis y Alloway, 2002). Los componentes orgánicos de bajo peso molecular (ácidos fúlvicos)

pueden movilizar el Cd en la solución y componentes de alto peso molecular (ácido húmicos) pueden fijar el Cd. Los coloides orgánicos y minerales son los principales componentes relacionados con la retención de Cd. Sin embargo el efecto individual no es fácil de determinar, debido a que la materia orgánica humificada está íntimamente enlazada a coloides minerales de la fase sólida, por lo tanto la materia orgánica humificada y los coloides minerales generalmente funcionan más como una unidad (McLaughlin y Singh, 1999).

La relación de absorbancias a 465 nm y 665 nm (E_4/E_6) ha sido muy utilizada como índice de humificación. La relación E_4/E_6 disminuye con el aumento del peso molecular y grado de condensación. Un bajo valor E_4/E_6 puede indicar un relativo alto grado de condensación de componentes aromáticos, y un alto valor, puede indicar la presencia de relativamente más estructuras alifáticas (Stevenson, 1994). Otros índices de humificación relacionan el extracto húmico total y el contenido de carbono orgánico total (EHT/COT) (Roletto, et. al., 1985)

La importancia de la descomposición de la materia orgánica es debida a que se piensa que el Zn y Cd están en gran parte asociados con la fracción orgánica en los lodos (Merrington et. al, 2003).

La influencia de la materia orgánica en la biodisponibilidad de metales en los lodos de depuradora, no sólo depende de la cantidad, sino de su estructura. Para caracterizar las estructuras de los compuestos orgánicos se suele emplear la técnica de resonancia magnética nuclear (RMN). Esta técnica está siendo en la actualidad ampliamente utilizada proporcionando una información muy valiosa a cerca de los grupos funcionales de la materia orgánica permitiendo, entre otros aspectos, explicar reacciones de adsorción y lixiviación de metales.

También otros análisis aportan información del grado de madurez de la materia orgánica como la relación C/N. Cuanto mayor sea esta relación menos madura está la materia orgánica. La fracción más lábil de la materia orgánica constituida por glúcidos, aminoácidos, polisacáridos sencillos, péptidos de cadena corta y fenoles puede estimarse determinando el carbono hidrosoluble (Benito, 2002)

1.2.2. Componentes inorgánicos en los lodos.

La fuerte retención de metales pesados es a menudo atribuida a la fracción inorgánica de los lodos (Merrington et. al., 2003). Una serie de trabajos con biosólidos han demostrado un rol predominante de los óxidos Fe y Mn en la retención y reducción de movilidad del Cd (Li et. al., 2001; Hettiarachchi et. al., 2003; Merrington y Smernik 2004).

Los óxidos de Al, Fe y Mn están relacionados con reacciones de adsorción específica de metales. La capacidad adsorber metales pesados de los óxidos de Fe y Mn es fuertemente dependiente del pH. El grupo hidroxilo unido al Fe es de carga variable y dependiendo del punto cero de carga (PZC) fija cationes o aniones. Los óxidos pueden formar complejos con enlaces covalente o iónicos con los metales. Las condiciones redox tienen un importante efecto sobre la capacidad de de óxidos e hidróxidos de adsorber metales. Cuando las condiciones reductoras causan la disolución de los oxihidróxidos de Mn, Al y Fe los elementos coprecipitados pueden ser liberados al medio (Alloway, 1995).

La constante de equilibrio (pK) definida por la reacción $M^{2+}+H_2O \rightleftharpoons MOH^++H^+$ relaciona el comportamiento de adsorción de los diferentes metales por los hidroxidos en el suelo. La adsorción específica aumenta con la disminución del valor de pK, pero en el caso del Cu y Pb los cuales tienen el misma pK, el Pb es más fuertemente adsorbido por su mayor radio iónico. Según el valor de pK, la adsorción específica sería (en aumento): Cd (pK=10.1) < Ni (pK=9,9) < Co (pK=9,7) < Zn (pK=9,0) << Cu (pK=7,7) < Pb (pK=7,7) < Hg (pK=3,4) (Alloway, 1995).

La formación de compuestos insolubles entre metales con los carbonatos, fosfatos y sulfatos puede constituir, en algunos casos, la forma predominante en que se encuentra el metal en los lodos. También el contenido de Ca, P y Al pueden contribuir a aumentar la capacidad de retener metales (Merrington et. al, 2003).

1.2.3. pH y reacciones de acidificación en los lodos

En general, los metales pesados de forma catiónica son más móviles en condiciones ácidas (Alloway, 1995). La mineralización del nitrógeno orgánico, procesos de descomposición de materia orgánica que contenga azufre, la hidrólisis de compuestos de aluminio y oxidación de sulfuros de hierro, pueden bajar el pH y

aumentar potencialmente la disponibilidad de metales en los lodos. La capacidad tampón de los lodos es gran parte controlada por componentes inorgánicos. La legislación de USA y Europa considera el pH como el primer factor que afecta la potencial disponibilidad de metales pesados en los lodos (Merrington et. al, 2003).

1.3. NUTRICIÓN VEGETAL Y METALES PESADOS

Los elementos químicos esenciales para el desarrollo de las plantas se muestran en la tabla 4. Todos ellos desempeñan funciones muy importantes en la vida de la planta y cuando están presentes en cantidades insuficientes, pueden producir en ella graves alteraciones y reducir notablemente en el crecimiento (Navarro, 2003; Vázquez, 2006).

Tabla 4: Elementos químicos esenciales para las plantas

Nutrientes esenciales para las plantas			
Para todas		Para algunas	
En cantidades relativamente grandes		En cantidades relativamente pequeñas	
1. Carbono	4. Nitrógeno	10. Hierro	17. Sodio
2. Hidrógeno	5. Fósforo	11. Manganeso	18. Silicio
3. Oxígeno	6. Potasio	12. Boro	19. Cobalto
	7. Calcio	13. Molibdeno	20. Vanadio
	8. Magnesio	14. Cobre	21. Níquel
	9. Azufre	15. Cinc	
		16. Cloro	

Fuente: Navarro, 2003

Se define como metales pesados aquellos elementos de transición que presentan como características común un densidad superior a $5-6 \text{ g cm}^{-3}$ o número atómico superior a 20 (Vázquez, 2004). Esta definición incluye a los micronutrientes esenciales Fe, Mn, Cu, Zn, B, Mo, Ni, los micronutrientes no esenciales: Co, V, etc. y los elementos tóxicos (que no cumplen ninguna función fisiológica en la planta): Cd, Pb, Hg, Al, As, etc. Los metales considerados como esenciales participan en el metabolismo de la planta. Son necesarios para las enzimas como activadores o como constituyentes específicos. El pH, materia orgánica, textura del suelo, actividad microbiana, condiciones climáticas, condiciones redox e interacciones entre otros elementos influyen en la asimilación de metales por la planta (Domínguez, 1988).

A partir de determinadas concentraciones, los metales pesados pueden resultar tóxicos para las plantas. Los metales más problemáticos pueden ser el Cd y Ni, cuya concentración en lodos puede llegar a ser muy elevada, y el Cu y Zn, que tienden a acumularse en los tejidos vegetales cuando existen en gran proporción (Costa et. al., 1991).

El grado de peligrosidad de los metales pesados va ligado a dos propiedades fundamentales: su toxicidad y su persistencia. Los metales pesados tienen un efecto más o menos directo sobre el metabolismo de los vegetales; pueden causar el cierre de los estomas e inhibir la transpiración; también pueden ir asociados a fenómenos de clorosis, marchitamiento y turgencia. La reducción de la actividad de las fosfatasas y la interferencia con la respiración mitocondrial parecen ser las causas más frecuentes de la disminución del crecimiento de la planta debida a metales pesados (Costa et. al., 1991)

Se han descrito algunas interacciones entre los metales susceptibles a afectar la asimilabilidad de otros metales en sentido positivo (sinergismo) o negativo (antagonismo). Estas interacciones se muestran en la tabla 5.

Tabla 5: Principales interacciones entre microelementos que pueden afectar la asimilación por la planta.

Elemento	Efecto de otros microelementos
Fe	Mn, Cu, Zn un poco negativo en orden decreciente
Mn	Fe muy negativo
Zn	Interferencia con Fe en la planta
Cu	Zn un poco negativa

Fuente: Domínguez, 1988

1.4. AGENTES QUELANTES

Los iones metálicos pueden formar complejos de esfera interna con ligandos. El ligando tiene dos átomos capaces de formar un anillo con un catión no hidratado, dando lugar a uniones fuertes. Si dos o más grupos funcionales de un mismo ligando están coordinados a un catión metálico en un complejo, éste recibe el nombre de quelato (Sposito, 1989).

La quelación es importante, porque aumenta la solubilidad de metales y afecta la disponibilidad de muchos nutrientes para las plantas. Los agentes quelantes son usados

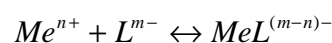
como micronutrientes en fertilización para proveer a la planta de Fe, Zn, Mn y Cu. Pero no siempre el quelato resulta ser eficaz, debido a que otros cationes pueden desplazar el metal agregado (Lindsay, 1979). Cuando un ión metálico ha formado un complejo por quelación, la concentración y el gradiente de concentración del ión quelatado en solución es en general mucho más elevada que en ausencia de la quelación. El movimiento del ión por difusión es por lo tanto fuertemente activado.

Algunos ejemplos de agentes quelantes naturales son los ácidos de bajo peso molecular (LMWOA) como son el ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico, ácido gálico, entre otros. Muchos de estos ácidos son liberados naturalmente por las plantas y microorganismos de la rizosfera, para aumentar la solubilización de nutrientes minerales por acidificación y formación de complejos orgánicos minerales (Wasay et al. 2000). Muchos otros compuestos naturales como las sustancias húmicas, ácidos lignosulfónicos, poliflavonoides, algunos aminoácidos, algunos polisacáridos y algunos polialcoholes también pueden tener propiedades quelantes.

Algunos ácidos orgánicos utilizados como agentes quelantes se muestran en la tabla 6. Estos ácidos orgánicos tienen la característica estructural de contener la unidad orgánica molecular COOH o grupo carboxilo. El grupo carboxilo puede disociar su protón fácilmente en un rango normal de pH del suelo y así el ácido con un protón disociado puede atacar los minerales y provocar su descomposición. El anión restante (COO⁻) puede formar complejos solubles con los cationes metálicos presentes en el medio (Sposito, 1989).

La constante de estabilidad de quelatos formados con materia orgánica y los metales tiende a ser en forma decreciente: Cu > Fe=Al > Mn=Co > Zn. La cantidad máxima de cualquier metal que puede ser ligado es aproximadamente igual al número de grupos carboxilos del agente quelante (Alloway, 1995).

Los ácidos orgánicos ligan los iones metálicos con diferentes constantes de estabilidad (K). La constante de estabilidad es una expresión de la relación entre ión metálico quelatado (MeL^{(m-n)-}) por el ligando (L^{m-}) y el ión metálico libre (Meⁿ⁺), según la siguiente ecuación:

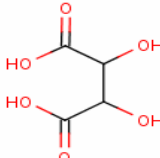
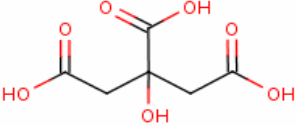
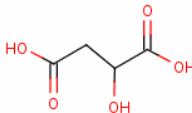
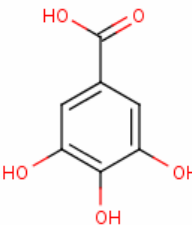


Como K es un número muy grande, es común expresarlo como log K:

$$\text{Log}K = \frac{\text{MeL}^{(m-n)-}}{\text{Me}^{n+}}$$

El ácido cítrico es un agente efectivo en solubilizar componentes minerales (Stevenson, 1994), forma quelatos estables, asimilables y fitocompatibles con la mayoría de los cationes metálicos. Las constantes de estabilidad para los quelatos de ácido cítrico más comunes se muestran en la tabla 7. Cuando en un sistema hay más de un metal presente, se formará primero el quelato cuya constante de estabilidad sea mayor.

Tabla 6: Algunos ácidos orgánicos usados como quelantes.

	Fórmula
Ácido tartárico CAS: 526-83-0	
Ácido cítrico CAS: 77-92-9	
Ácido málico CAS: 6915-15-7	
Ácido gálico CAS: 149-91-7	

Fuente: Sposito, 1989.

Tabla 7: Constante de estabilidad (LogK) de los quelatos del ácido cítrico

Metal	Valencia	Constante de estabilidad log K para el ácido cítrico
Fe	+3	11,5
Fe	+2	4,4
Zn	+2	5,0
Cu	+2	5,9
Mn	+2	4,2
Cd	+2	3,8
Pb	+2	4,1

Fuente: Barton L., 2006.

Entre los agentes quelantes sintéticos está el DTPA (ácido dietiltri Aminopentaacético) que es un reconocido agente extractante capaz de extraer el metal enlazado a fracciones asociadas a carbonatos y a la material orgánica indicando la cantidad de metal potencialmente disponible para la planta (Walter et. al., 2006).

El DTPA es muy utilizado para estimar la disponibilidad de nutrientes en análisis de suelos (Lindsay, 1979) y en mejoradotes de suelo y sustrato de cultivo (UNE-EN 13651, 2001). El DTPA es un ácido aminopolicarboxílico cuya estructura figura 3.

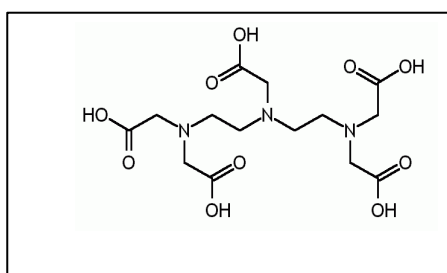


Figura. 3: Estructura del DTPA(ácido dietiltri aminopentaacético) (CAS: 67-43-6)

1.5. FITOEXTRACCIÓN Y FITOESTABILIZACION

Cada vez se valora más la presencia de plantas como un factor que equilibra el medioambiente frente a los procesos industriales tales como combustión de hidrocarburos y generación de residuos (lodos, sólidos orgánicos e inorgánicos, y efluentes). Ha sido ampliamente reconocida la capacidad de las plantas para absorber CO₂ y más recientemente otros gases industriales (Cunningham y Ow, 1996).

El ciclo de vida de las plantas tiene profundos efectos sobre los procesos químicos, físicos y biológicos de su entorno. En el proceso de crecimiento de la parte aérea y raíz de la planta, su nutrición, senescencia y eventual muerte, pueden alterar profundamente el suelo.

Los efectos de muchos de estos procesos son evidentes en la restauración de suelos física y químicamente alterados. De igual modo, hay plantas que crecen en áreas fuertemente impactadas por industrias, minas y actividades urbanas, pudiendo directa o indirectamente absorber, secuestrar, y/o degradar el contaminante.

La fitorremediación se define como el uso de plantas verdes para eliminar los contaminantes del entorno o para reducir su peligrosidad. Los elementos tóxicos se encuentran generalmente a niveles bajos en el medio ambiente, aunque pueden aparecer acumulaciones locales de elementos tóxicos como resultado de las actividades humanas relacionadas con la industria. A pesar de una tendencia a disminuir la contaminación por elementos liberados de las actividades industriales, los elementos tóxicos siguen acumulándose en los suelos, con un potencial riesgo de lixiviación de estos elementos hacia las aguas superficiales y subterráneas, absorción de plantas y finalmente acumulación en la cadena trófica de la población humana. Cuando se presenta una alta biodisponibilidad de metales pesados pueden resultar tóxicos tanto los elementos esenciales (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo) como los no esenciales (Cd, Pb, Hg; Cr). Para el caso de la contaminación de suelos, las técnicas de fitorremediación más utilizadas, son la fitoextracción y la fitoestabilización (Vázquez, 2006)

La fitoextracción consiste en el uso de plantas acumuladoras de contaminantes para eliminar elementos tóxicos o compuesto orgánicos del suelo mediante su concentración en la partes cosechables. Como técnica de descontaminación de suelos busca explotar la capacidad de las plantas para acumular elementos tóxicos en su biomasa, extrayendo los elementos tóxicos del suelo con sus raíces y concentrando estos elementos en la parte aérea. Las plantas usan la energía fotosintética para extraer iones del suelo y concentrarlos en su biomasa, de acuerdo con sus requerimientos nutricionales. Cuando están presentes en altas concentraciones, estos contaminantes, que pueden ser elementos esenciales o no, entran a las plantas superiores por similitud química con otros nutrientes. El objetivo de la fitoextracción es utilizar los sistemas de adquisición de nutrientes de las plantas para alcanzar la máxima acumulación de elementos contaminantes en la parte aérea de la planta. Después de cosechado el

material vegetal, su peso y su volumen puede ser posteriormente reducido por secado, calcinación o compostaje. El residuo vegetal enriquecido con el metal puede ser almacenado como material contaminado o si es económicamente factible se utiliza en la recuperación del metal (Salt et al., 1998). Muchas raíces de las plantas absorben metales pesados si están biodisponibles en la solución del suelo, pero a largo plazo la translocación dentro de la parte aérea es a menudo limitante.

El aumento de la biodisponibilidad y absorción de muchos metales por la planta puede ser realizado bajando el pH del suelo, adicionando agentes quelantes, usando fertilizantes apropiados y alterando la composición iónica del suelo. Por ello se emplean técnicas de fitoextracción inducida, impulsada por la presencia de complejantes. Esta técnica se lleva a cabo cultivando una plantación de especies en la zona contaminada, hasta alcanzar una masa vegetal adecuada que es cuando es aplicado el agente quelante, aumentando así la biodisponibilidad del metal que es absorbido por la planta. El objetivo es obtener una gran cantidad de biomasa total, para fitoextraer metales pesados del medio. Los ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOA), y agentes quelantes como el EDTA y el DTPA se emplean como complejantes para técnicas de fitoextracción asistida (Wasay, et al., 2000; Wu et. al., 2003). El ácido cítrico ha sido muy utilizado en estos estudios (Salt et. al., 1998, Turgut et. al., 2004; Lesage et. al., 2005; Do Nascimento et. al., 2006; Quartacci et. al., 2006). Los ácidos orgánicos son menos efectivos que el DTPA (ácido dietiltriainopentoaacético), pero son biodegradables, mientras que el DTPA suele disolver una gran cantidad de metal y es muy persistente.

La fitoestabilización es la tecnología mediante la cual se consigue que los contaminantes precipiten en la solución del suelo o sean absorbidas o inmovilizados tanto en los tejidos vegetales como en la matriz del medio. La absorción o adsorción puede alcanzarse tanto por enmiendas en el suelo como a través de la acción de la planta y su microflora. Las enmiendas elegidas pueden precipitar, complejar o absorber los contaminantes para disminuir su movilidad y biodisponibilidad para las plantas y animales. Tanto la enmienda como la planta pueden alterar el estado físico u químico de los elementos tóxicos presentes en el entorno (Cunningham y Ow, 1996).

1.6. USO DE COMPOST DE BIOSÓLIDOS COMO ENMIENDA ORGÁNICA Y SUSTRATOS DE CULTIVO

El volumen de lodos de depuradora que se destinan a compostaje es reducido (tabla 1). Sin embargo, se reconoce la necesidad y el efecto positivo en general de la adición de enmiendas orgánicas a los suelos debido a (Soler et. al, 1997; Porta, 2003):

- a) El empobrecimiento gradual en materia orgánica de los suelos, de manera natural y como consecuencia del desarrollo de los cultivos intensivos.
- b) La aparición de nuevas necesidades de materia orgánica como consecuencia del desarrollo de los espacios verdes: parques, jardines, instalaciones deportivas, cultivos ornamentales e intensivos
- c) La necesidad de luchar contra la erosión y desertificación del suelo.

La adición de compost de biosólidos a suelos contaminados aumenta la capacidad de adsorción de metales pesados disminuyendo su movilidad, aunque los biosólidos por sí mismos contengan mayores contenidos de metales que el suelo (Merrington y Smernik, 2004)

Actualmente hay una serie de trabajos publicados que han demostrado que el compost de biosólidos puede inmovilizar metales pesados en suelos contaminados (Li et. al., 2001; Stacey et. al., 2001; Bolan et. al., 2003; Hettiarachchi et al., 2003), disminuyendo la biodisponibilidad de metales para las plantas (Shuman et. al., 2002). Estos trabajos realizados con cadmio atribuyen a los componentes orgánicos y/o inorgánicos de los biosólidos la capacidad de adsorción de este metal.

Como sustratos de cultivo de plantas, el compost de biosólidos pueden presentar los siguientes inconvenientes:

- **Exceso de salinidad:** La conductividad eléctrica puede alcanzar valores tóxicos para las plantas.
- **Exceso de nutrientes:** Generalmente suelen tener altas concentraciones de cloruros y nitratos. También altas concentraciones de Ca y K.
- **Metales pesados:** Es el factor más limitante y su grado de peligrosidad está en función de su concentración. El contenido ha disminuido en lodos en los últimos años, y el proceso de compostaje asegura una menor movilidad.

- **Alta densidad:** Que puede ocasionar problemas de aireación si su empleo se destina como sustrato de cultivo de plantas en contenedor.
- **Microorganismos patógenos y/o sustancias fitotóxicas:** Un buen proceso de compostaje previo asegura la eliminación de la gran parte de microorganismo patógenos, sin embargo ciertos problemas como la compactación o falta de aireación durante el compostaje pueden favorecer la sobrevivencia de patógenos. Las sustancias fitotóxicas pueden provenir de los componentes vegetales del compost (corteza de árboles) o de metales pesados (lodos de depuradoras).

Para corregir algunas de estas propiedades, como la alta densidad y elevado contenido de nutrientes del compost de biosólidos, se recomienda mezclarlo con otros materiales con el objeto de mejorar sus propiedades químicas e hidrofísicas (Burés, 1997).

Los sustratos que incluyen compost de lodos de depuradora han sido utilizado con éxito para el cultivo de plantas de temporada, plantas de hoja, floricultura y ornamentales leñosas en contenedor . Se ha empleado como componente de sustratos de cultivo en especies forestales, arbustivas, plantas ornamentales, entre otras: *Cordeyline terminalis*, *Dieffenbachia maculata*, *Dracaena fragans* *Bougainvilla spectabilis*, *Ixora coccinea*, *Heliconia taxa*, *Pinus pinea*, *Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizónica*, *Nerium oleander*, *Rossmarinus officinalis*, *Atriplex halimus* y *Osteospermum ecklonis* (Ingelmo *et al.*, 1998; Tan, L.P *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2002; Guerrero *et al.*, 2002; López-Cuadrado, 2006.).

2. OBJETIVOS

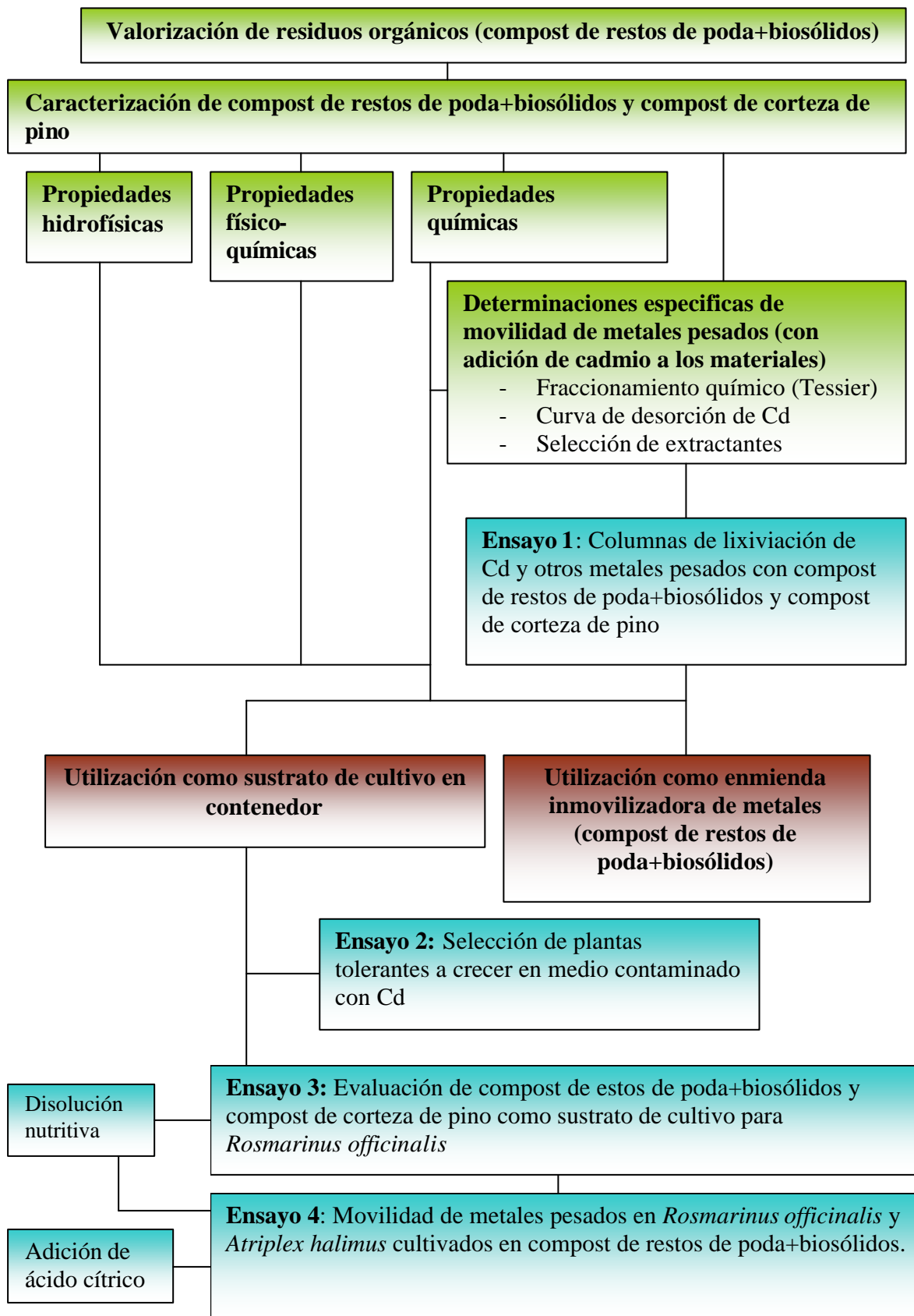
En el presente trabajo se pretende abordar el problema de los residuos orgánicos y sus contenidos en metales pesados bajo una perspectiva que unifique su viabilidad como sustrato de cultivo y su posible utilización en técnicas de fitorremediación, en concreto con plantas arbustivas perennes y autóctonas de la zona mediterránea.

Para ello, los objetivos del presente trabajo fueron los siguientes:

1. Evaluar la movilidad y biodisponibilidad de metales pesados en compost de restos de poda de jardinería urbana y biosólidos (lodos de depuradora de aguas residuales) y compost de residuos forestales (corteza de pino).
2. Valorizar el compost de restos de poda y biosólidos como sustrato de cultivo de plantas arbustivas ornamentales en contenedor.
3. Evaluar mediante técnicas de fitoextracción asistida la capacidad de *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* para absorber metales presentes en el compost de restos de poda y biosólidos.

Para llevar a cabo los objetivos, se realizó en primer lugar un análisis de las propiedades hidrofísicas, físico-químicas y químicas del compost de restos de poda+biosólidos comparándolo con un compost de corteza de pino (sustrato comercial) incluyendo algunas determinaciones específicas para evaluar la biodisponibilidad de metales como fraccionamiento químico, curva de desorción de cadmio y selección de soluciones extractantes.

El esquema de trabajo y la secuencia de objetivos planteados se representa en el esquema siguiente



3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE COMPOST DE RESTOS DE PODA+BIOSÓLIDOS Y COMPOST DE CORTEZA DE PINO

3.1.1. Selección de materiales

Se seleccionaron dos materiales: compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

El compost de es un residuo urbano, que genera en cantidades crecientes en las ciudades. Los restos de poda provienen del mantenimiento de árboles y arbustos de la jardinería urbana, mientras que los biosólidos son lodos de depuradora de aguas residuales. Su potencial contenido en metales pesados es un factor limitante a la hora de valorizar el uso agrícola de este compost. Actualmente este compost se utiliza como enmienda orgánica y también existen antecedentes donde se ha empleado como sustrato de cultivo en plantas en contenedor, pero mezclándolos previamente con turba y perlita (López-Cuadrado, 2006). Por lo tanto, lo que pretende este trabajo es probar este material solo, sin mezcla, como sustrato de cultivo a la vez que se evalúa la movilización de metales pesados.

También se seleccionó un compost de corteza de pino, que es un residuo forestal. Los residuos forestales son los provenientes de aserraderos e industrias de la madera y papeleras en donde se obtienen una gran cantidad de subproductos como son las cortezas y las fibras de madera. Se pueden utilizar cortezas de muchas especies de árboles, siendo la corteza de pino la más utilizada en España. El compost de corteza de pino, se utiliza como sustrato comercial.

La aplicación directa de residuos orgánicos frescos presenta una serie de inconvenientes como fototoxicidad, inmovilización de nitrógeno, deficiencia de oxígeno radicalr y elevación excesiva de la temperatura de la rizosfera, entre otros, por tal razón se recurre a la técnica de compostaje, que se define como un proceso de oxidación biológica de la materia orgánica bajo condiciones controladas y que tiene como resultado, además de agua y dióxido de carbono, una materia orgánica estabilizada y libre de sustancias fitotóxicas (Benito, 2002; López-Cuadrado et. al., 2006).

Los materiales seleccionados provienen de plantas de compostaje situadas en Madrid (Villanueva de la Cañada) y Ávila, respectivamente:

1. Compost de restos de poda+biosólidos: 70% restos de poda y jardinería urbana + 30% biosólidos (lodos de depuradora de estación de depuradora de aguas residuales (EDAR)) (peso/peso). Esta mezcla es conjuntamente compostada en túneles con aire forzado por 14 días. Posteriormente el material se madura en pilas de aire abierto con volteos y humectación periódica. El proceso se completa en aproximadamente 5-6 meses. Este material se emplea como enmienda orgánica. Se realizaron dos recogidas de muestras. Para el ensayo 1 en noviembre 2005, y para realizar los ensayos 3 y 4, en noviembre 2006.

2. Compost de corteza de pino: 80% corteza de pino. A la corteza de pino se le agrega urea y agua. Es compostada por 4 meses en pilas de aire abierto. Luego se muele, se criba y se mantiene madurando otros 4 meses. Al producto final se le agrega turba y/o fibra de madera (20%) y fertilizantes. Este material se emplea como sustrato comercial. Se realizaron tres recogidas de muestras. Para el ensayo 1 en noviembre 2005, para realizar el ensayo 2 en abril 2006 y finalmente para el ensayo 3 en noviembre 2006.

3.2 Caracterización físico-química de los materiales

3.2.1 Densidad aparente compactada en laboratorio, contenido de humedad y materia seca de los materiales.

El contenido de humedad, la materia seca, y densidad aparente compactada en laboratorio de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino se determinaron según el procedimiento descrito en la norma UNE-EN 13040 (2001) para mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Para todas las determinaciones se realizaron 4 repeticiones por muestra.

- Densidad aparente compactada de laboratorio (DACL)

La densidad aparente compactada en laboratorio, es el cociente entre el peso de la muestra húmeda y el volumen total de muestra (López-Cuadrado, 2006). Esta densidad es la empleada para preparar los extractos del sustrato cuando se emplea la

relación volumen/volumen. La densidad aparente compactada de laboratorio del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se determinó tomando una porción de muestra húmeda que se coloca en un cilindro normalizado de capacidad de 1000 mL±30 mL (V). Este cilindro consta de collar desmontable, un tamiz, que controla la caída de la muestra en el interior del cilindro y un pistón. La muestra al interior del cilindro se compacta dejando caer sobre ella un pistón de peso normalizado durante 180 segundos. Transcurrido el tiempo, se retira el pistón, el collar y se nivela el material sin producir compactación. Luego se pesa con precisión de 0,1 g. El procedimiento se realiza por triplicado y se obtiene una media aritmética del peso (m_L). La densidad aparente compactada se calcula con la ecuación:

$$DACL = \frac{m_L - m_o}{V}$$

DACL: es densidad aparente compactada en laboratorio en g L⁻¹

m_L : es la masa en gramos de la muestra húmeda y el cilindro

m_o : es la masa en gramos del cilindro

V: volumen del cilindro en L

- Humedad

Para determinar la humedad, del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se tomó una porción de la muestra (por triplicado) y se llevó a una estufa (Memmert 800) a 75°C ± 5°C hasta peso constante. Luego se aplicó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ humedad} = \frac{m_w - m_D}{m_w - m_t} \times 100$$

Donde,

m_w : es la masa en gramos de la muestra húmeda y la bandeja

m_D : es la masa en gramos de la muestra seca y la bandeja

m_t : es la masa en gramos de la bandeja vacía seca.

- Materia seca

Para determinar la materia seca, del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se añadió en una bandeja seca unos 50 gramos de muestra

y se pesó con una precisión de 0,01 g (m_w) (por triplicado). Se colocó la bandeja en la estufa $103^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ y se seca hasta que la diferencia entre dos pesadas sucesivas no exceda 0,1 g. Luego se aplicó la siguiente ecuación:

$$\% \text{Materia seca} = \frac{m_D - m_t}{m_w - m_t} \times 100$$

Donde,

m_w : es la masa en gramos de la muestra húmeda y la bandeja

m_D : es la masa en gramos de la muestra seca y la bandeja

m_t : es la masa en gramos de la bandeja vacía seca.

3.2.2. Densidad aparente seca, densidad real, volumen de aire, volumen de agua, valor de contracción y porosidad total de los materiales.

Estas propiedades en los sustratos de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se determinaron según a norma EN 13041 (1999), con 4 repeticiones por muestra. El procedimiento se llevó a cabo realizando los siguientes pasos:

1. Humidificación, saturación y equilibrado del material a una tensión de 50 cm de columna de agua: se llenaron dos contenedores plásticos de 3 L. Se cubrió cada contenedor con una gasa sintética fijándola con una banda elástica. Se colocó el contenedor sobre la rejilla en un baño de agua vacío. Se llenó lentamente el baño de agua hasta que el nivel llegó a 1 cm. por debajo del borde superior del tubo. Se dejó reposar manteniendo el nivel de agua constante hasta la humidificación completa de la muestra por 24 horas. Se retiraron los contenedores y fueron transferidos al lecho de arena (Eijkelkamp pF 2.0). Se aplicó durante 48 h una presión hidrostática de -50 cm de columna de agua. Se vaciaron los contenedores y se transfirieron en porciones de unos 50 ml de muestra a los dobles anillos (de altura media h_i , diámetro medio d_i y peso m_i). 4 repeticiones por muestra. Se saturaron los anillos en un baño de agua por 24 horas.

2. Succión: se retiraron los anillos del baño de agua, se transfirieron al lecho de arena y se aplicó una tensión de -10 cm de columna de agua durante 48 horas.

3. Separación de los anillos: se retiraron los anillos del lecho de arena, se separó el anillo superior y se anotó el peso del anillo (m_2). Luego se llevo a secar en una estufa a $103^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ hasta masa constante (m_3). Se quitó el anillo y se midió la altura (h_2) con un calibre digital (Comecta) y el diámetro medio (d_2) de las muestras secas para determinar el porcentaje de contracción.

- Densidad aparente seca

La densidad aparente seca se define como la masa seca del material por unidad de volumen aparente del sustrato húmedo, es decir, incluyendo el espacio poroso entre las partículas (Benito, 2002). La densidad aparente seca se calculó:

$$Da = \frac{m_3 - m_1}{V} \times 100$$

Donde:

Da: densidad aparente seca en kg m^{-3}

m_1 : masa del cilindro del anillo de muestra en kg

m_3 : masa de la muestra seca y la del anillo en kg

V: volumen del anillo de muestra en m^3 .

- Porcentaje de contracción

El porcentaje de de contracción se determinó según:

$$\% \text{contracción} = \frac{V_1 - V_m}{V_1} \times 100$$

Donde:

V_1 : Volumen del anillo de muestra en cm^3

V_m : Volumen medio de la muestra seca en $\text{cm}^3 = p \times (0,5 \times d_2)^2 \times h_2$

- Densidad real (densidad de partículas)

La densidad real o de partículas es la relación entre la masa de las partículas y el volumen que estas ocupan, sin considerar los poros ni huecos (Benito, 2002). La densidad real se calculó mediante:

$$Dr = \frac{1}{\frac{W_{mo}}{100 \times 1550} + \frac{W_{ce}}{100 \times 2650}}$$

Donde:

Dr: es la densidad real en kg m^{-3}

W_{mo} : contenido de materia orgánica %

W_{ce} : contenido de ceniza %

1550: densidad de la materia orgánica en kg m^{-3}

2650: densidad de las cenizas en kg m^{-3}

- Porosidad total

La porosidad total se determinó a la tensión de -10 cm de columna de agua, según la ecuación:

$$\% PT = \left(1 - \frac{Da}{Dr} \right) \times 100$$

Donde:

PT: Porosidad total en %

Da = Densidad aparente seca en kg m^{-3}

Dr = Densidad real o densidad de partículas en kg m^{-3}

- Volumen de agua

El volumen de agua (H_v) se calculó después de haber aplicado una tensión de -10 cm de columna de agua. Previamente se calcula la humedad en peso del sustrato a -10 cm, aplicando:

$$\% Hp = \frac{m_2 - m_3}{m_3} \times 100$$

Donde:

H_p : Humedad en peso del sustrato en % a -10 cm de tensión

m_2 = masa de la muestra+masa del anillo en g

m_3 = masa de la muestra seca a $103^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$

Luego el volumen de agua (H_v) será:

$$\% H_v = \% H_p \cdot D_a$$

Donde:

H_v : volumen de agua en % a -10 cm de tensión

D_a : Densidad aparente seca en kg m^{-3}

- Volumen de aire (capacidad de aireación)

El volumen de aire a tensión de -10 cm de columna de agua se calculó según:

$$\text{Volumen de aire (\%)} = P_T - H_v$$

Donde:

P_T = Porosidad total en %

H_v = Volumen de agua en %

Se repitió el mismo procedimiento (humidificación, succión y separación de anillos) pero a tensiones de -50 y -100 cm de columna de agua. A partir de los cuales se determinaron:

- Agua fácilmente disponible: es el agua que queda retenida en el sustrato entre las tensiones de -10 cm y -50 cm expresado en %
- Agua de reserva: es el agua que queda retenida en el sustrato entre las tensiones de -50 y -100 cm expresado en %.

3.2.3. Granulometría

El análisis granulométrico, del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se realizó utilizando una tamizadora eléctrica con una serie de tamices de acero inoxidable (Filtro): 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25 y 0,1 mm. Para el tamizado se

pesaron 100 g de muestra seca al aire (4 repeticiones), con precisión de 0,01 g y a partir del peso de muestra retenido en cada uno de los tamices se calcula el % en peso que corresponde a cada una de las fracciones granulométricas. El índice de grosor se obtuvo sumando los porcentajes (en peso) de partículas con diámetro mayor a 1 mm.

3.3 Caracterización química de los materiales

3.3.1 pH, conductividad eléctrica y elementos solubles (Ca, Mg, Na, K, NO₃, P, Cl).

El pH, conductividad eléctrica y elementos solubles en el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se midieron en extracto saturado (Ansorena, 1994) y extracto 1:5 (UNE-EN 13037, 1999; UNE-EN, 13038, 2001 y UNE-EN 13652, 2002) con 4 repeticiones por muestra:

Extracto saturado (pasta saturada)

Se colocó en un recipiente unos 400 ml de muestra. Se añadió agua destilada, hasta saturación, mezclando suavemente con una espátula. Al saturarse, la pasta brilla por reflexión de la luz, fluye ligeramente si se inclina el recipiente y queda un poco de agua libre que asciende a la superficie cuando se deja durante unos minutos. Se deja en reposo 24 horas. Si al día siguiente está demasiado húmeda se agrega más muestra o si se ha secado demasiado se agrega agua destilada. Luego la pasta saturada se puso en un embudo Buchner con un papel filtro (Whatman 42) y se filtró utilizando una bomba de vacío (P selecta vacum-pres).

Extracto 1:5

Se tomó el peso equivalente de 60 ml con precisión de 1 g (calculado según la densidad aparente compactada de laboratorio, apartado 3.1.2) y se transfirieron a un bote plástico. Se añadió 300 mL de agua destilada. Se agitó 1 hora en agitador de volteo (Heidolph Reax2). La muestra se puso en un embudo Buchner con papel filtro (Whatman 42) y se filtró utilizando una bomba de vacío (P selecta vacum-pres).

- pH, conductividad eléctrica, Ca, Mg, K y Na

El pH en los extractos saturado y 1:5, se determinó mediante electrodos (Orion 720A) (EN 13037, 2001). En este mismos extractos, se determinó la conductividad

eléctrica mediante un conductivímetro (Crison 2200) (EN 13038, 2001) y los elementos solubles Ca, Mg, K, Na por espectrofotometría de absorción atómica (AAS, Perkin Elmer Analyst 800) (UNE, EN 13652, 2002).

- Nitratos

Para los nitratos, se tomaron 0,2 ml de muestra del extracto y se les adicionaron 0,8 ml de disolución de ácido salicílico en ácido sulfúrico (ácido salicílico al 5% en H₂SO₄). Se dejó reposar 20 minutos a temperatura ambiente. Luego se adicionó 19 ml de NaOH 2 N. Una vez enfriadas las muestras se determinó su absorbancia a 410 nm (Shimadzu UV 160A). La recta patrón se preparó de la misma manera, con las disoluciones patrón de 10, 25, 50 y 100 mg L⁻¹ de NO₃⁻.

- Fósforo

Para el fósforo, se tomaron 0,5 ml de muestra del extracto +3,75 ml de agua destilada+1,5 ml de reactivo DUVAL+1,5 ml de ácido ascórbico al 1% (C₆H₈O₆).

El reactivo DUVAL se preparó disolviendo 38 g de molibdato amónico ((NH₄)₆Mo₇O₂₄·H₂O) en 100 ml de agua destilada. Por otro lado se mezclaron 280 ml de H₂SO₄ concentrado con 300 ml de agua destilada. Una vez fría la solución de H₂SO₄ se mezcló ambas disoluciones añadiendo el ácido sulfúrico sobre el molibdato, y se enrasó a 1 L de agua destilada.

Las muestras con los reactivos, se llevaron a un baño por 15 minutos a 60°C. Se midió la absorbancia a 660 nm (Shimadzu UV 160A). La recta patrón se hizo de la misma manera, con las disoluciones patrón de 0, 5, 10, 25 y 50 mg L⁻¹ de fósforo.

- Cloruros

Para los cloruros, se tomaron 10 ml de muestra del extracto y patrones (10 y 1 meq L⁻¹) y se pusieron en vasos precipitados. Se añadió 1 ml de ISA (ajustador de fuerza iónica, NaNO₃ 5M). Se procedió a calibrar el aparato (Orion 720A) y mediante electrodos se determinó la concentración de las muestras.

3.3.2 Materia orgánica y cenizas.

El contenido de materia orgánica representa la fracción de carbono de una muestra libre de agua y de sustancias inorgánicas. Y las cenizas, es el material residual que permanece tras la destrucción mediante combustión controlada de la materia orgánica.

La materia orgánica y cenizas, del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se determinaron según el procedimiento (UNE-EN 13039, 2001) con 4 repeticiones por muestra.

Se preparó previamente la cápsula de porcelana calentando durante 16 h en horno mufla (P selecta Select horn) a $550^{\circ}\text{C}\pm 10^{\circ}\text{C}$. Se secó en desecador y se anotó la masa (m_0). Se puso en la capsula 5 g de muestra y se secó en estufa a $103^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 4 horas. Se dejó enfriar la cápsula hasta temperatura ambiente en el desecador y se pesó con precisión de 0,001g. Se repitió el procedimiento hasta que la diferencia entre dos pesadas sucesivas fue menor a 0,01 g. Se anotó la masa de la cápsula y de la muestra seca (m_1). Se colocó la cápsula y su contenido en el horno mufla frío y se elevó la temperatura gradualmente durante 1 hora aproximadamente hasta que alcanzó los $450^{\circ}\text{C}\pm 10^{\circ}\text{C}$. Se mantuvo a esta temperatura durante 6 h. Se dejó enfriar la cápsula hasta temperatura ambiente en el desecador y se pesó con precisión de 0,001g. Se repitió el procedimiento hasta que la diferencia entre dos pesadas sucesivas fue menor a 0,01 g. Se anotó la masa de la capsula y de la muestra tras la combustión (m_2). El contenido de materia orgánica y cenizas, expresado como porcentaje en peso de muestra seca, se calculó con la ecuación:

$$\%MO = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

$$\%cenizas = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

Donde:

MO: Materia orgánica en porcentaje

m_0 : es el peso de la cápsula (g)

m_1 : es el peso de la cápsula y la muestra tras secar (g)

m_2 : es el peso de la cápsula y la muestra tras su combustión (g)

3.3.3. Carbono orgánico total.

El contenido de carbónico total (COT) del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino se calculó dividiendo el contenido de materia orgánica total (apartado 3.3.2) por 1,72 (Benito, 2002), debido a que se considera que la materia orgánica tiene un 58% de carbono.

3.3.4. Nitrógeno Total.

El nitrógeno total, en el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se determinó siguiendo la norma UNE-EN 13654-1. 4 repeticiones por muestra. Para ello se colocó 0,2 g de la muestra seca y molida en un matraz de digestión y se añadió 4 mL de ácido salicílico/sulfúrico (25 g de ácido salicílico ($\text{HOC}_6\text{H}_4\text{COOH}$) disueltos en 1000 mL de ácido sulfúrico. Se agitó y se dejó la mezcla reposar toda la noche. Posteriormente se añadió 0.5 g de tiosulfato sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Se calentó la mezcla en el bloque digestor (Block Digest 12, Selecta) hasta que cesó la formación de espuma. Se enfrió el matraz y se añadió 1,1 g de mezcla catalizadora (moler 200g de sulfato potásico + 6 g de sulfato de cobre (II) pentahidrato) y se calentó la mezcla por 5 horas sin que la temperatura excediera los 400°C.

Posteriormente añadió 0,1 ml de muestra N-Kjeldhal + 5 ml de tampón + 4 ml de reactivo de salicilato +2,5 ml de NaClO (hipoclorito al 5,25%).

El tampón se preparó disolviendo 50 g de $\text{NaK}(\text{COO})_2(\text{CHOH})_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (tartrato sódico potásico tetrahidratado) +14 g $\text{HN}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (fosfato disódico) + 24 g de NaOH (hidróxido de sodio) enrasado a 1 L.

El reactivo de salicilato se preparó disolviendo 4 ml de reactivo de salicilato (150 g de $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$ (salicilato) + 0,30g de $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (nitroprusiato sódico) enrasando a 1L.

La absorbancia de las muestras se midieron a 660 nm (Shimadzu UV 160A). Para la recta de patrón se utilizó 0,1 ml de solución patrón de 10, 25, 50 y 75 mg Γ^1 de amonio en 10% de H_2SO_4 .

3.3.5. Capacidad de intercambio catiónico efectiva

La capacidad de intercambio catiónico efectiva del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se realizó según el método descrito por Ansorena (1994). Para ello, se pesaron 2,5 g de muestra, secada al aire y tamizada a 2 mm, y se puso en tubos de centrifuga de polietileno de 50 mL (W_1) (4 repeticiones por muestra). Se añadieron 30 mL de solución de cloruro bórico 0,1 M (24,43 g de $Cl_2Ba.2H_2O$ enrasado a 1 L). Se agitaron los tubos por volteo (Heidolph Reax2) durante 1 hora. Luego se centrifugó a 2300 rpm durante 10 minutos (Sorval[®] RC-5C) desechando el sobrenadante. Esta operación se repitió 3 veces. Luego al material sólido se añadió 30 ml de cloruro bórico 0,025M y se dejó agitando en agitador de volteo por 24 h. Luego se centrifugó a 2300 rpm durante 10 min decantando el sobrenadante. Se pesó el tubo con la muestra (W_2). Se añadió 3 ml de solución de sulfato de magnesio 0,02M (4,9296 g de $SO_4 Mg.7H_2O$ y se enrasa a 1 L), se agitó 2 h y se centrifugó a 2300 rpm durante 10 minutos. Se decantó la solución sobrenadante y se filtró (papel Whatman 42). Se midió el exceso de Mg por espectrofotometría de absorción atómica. (AAS, Perkin Elmer Analyst 800).

Se hizo una corrección por el efecto del volumen de líquido retenido por la muestra centrifugada, después de añadirle $BaCl_2$ 0,0025M:

$$A_2 = \frac{A_1(30 + W_2 - W_1)}{30}$$

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) efectiva se calculó por:

$$CIC (cmol_+ kg^{-1}) = (B - A_2)1200/w$$

Donde:

A_1 : concentración medida de magnesio, mM

A_2 : concentración de magnesio en la muestra, mM

B: concentración de magnesio en el blanco, mM

W_1 : peso de la muestra y el tubo de centrifuga en g.

W_2 : peso de la muestra y el tubo centrifuga después de lavar en g

w: Peso de la muestra en g.

3.3.6. Extracto húmico total e índice de humificación.

El extracto húmico total, del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se determinó siguiendo el protocolo descrito en métodos oficiales de análisis (M.A.P.A, 1994). Para ello la muestra se secó a 50-60° C durante veinticuatro horas en estufa (Memmert 800). Se pesó 0,5 g de la muestra finamente molida con precisión de 0,1 mg, y fue introducida en un tubo de centrífuga de 200 ml. Se añadieron 100 ml. de solución extractante recientemente preparada (44,5g de $\text{Na}_4\text{P}_7\text{O}_{21} \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ + 4 g de NaOH enrasado a 1 L). Se agitó 60 minutos, en agitador de volteo (Heidolph Reax2) y se centrifugó a 4.500 rpm (Sorval® RC-5C) durante veinticinco minutos. Se repitió esta operación hasta que el líquido de extracción fue incoloro o ligeramente coloreado. Todos los sobrenadantes de las centrifugaciones se enrasaron en un matraz de un litro con agua destilada.

La valoración del carbono orgánico del extracto húmico se realizó tomando 50 ml del extracto obtenido anteriormente y se llevó a un matraz de 500 ml a baño de agua evaporando a sequedad. Se añadió 10 ml de solución 1N de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (dicromato potásico) y 20 ml de H_2SO_4 , con agitación suave 1 minuto. Se dejó reposar durante treinta minutos. Luego se añadió 200 ml de agua destilada y 10 ml de H_3PO_4 (ácido fosfórico) y se dejó enfriar. Se añadió 1 ml de difenilamina (0,5 g +20 ml de H_2O + H_2SO_4) y se valoró con sal de Mohr 0,5N comparando con prueba en blanco.

El extracto húmico total (%) se calculó según:

$$\%C = \frac{(V - V_1) \cdot N \cdot f \cdot 0,39}{P}$$

% de materia orgánica de extracto húmico total = %C x 1,724

Donde:

V : volumen, en ml., de sal de Mohr gastados en la prueba en blanco.

V_1 : volumen, en ml., de sal de Mohr gastados en el problema.

N: Normalidad de la sal de Mohr.

f : factor de la sal de Mohr.

P: peso, en gramos, de la muestra en la alícuota.

0,39: factor que resulta de considerar que por este método sólo se oxida el 77 % del carbono existente en la muestra.

El índice de humificación del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino se calculó como la relación EHT/COT x100 (Roletto, et. al, 1985). Siendo EHT extracto húmico total y COT el carbono orgánico total determinado en el apartado 3.3.3.

3.3.7. Carbono hidrosoluble

El carbono hidrosoluble del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino fue analizado en el extracto acuoso (1:10 p/p) (4 repeticiones por muestra). El extracto se agitó durante 2 horas por volteo (Heidolph Reax2) y posteriormente fue puesto en un embudo Bushner y filtrado (papel Whatman 42) utilizando una bomba de vacío (P selecta vacuum-pres). Luego se tomaron 4 ml de extracto filtrado y se le añadieron 4 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado y 1 ml de dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$) 1 N; se colocaron 30 minutos en una placa calefactora a 100°C (Block Digest 12, Selecta) y después de enfriar se enrasó a 10 ml con agua destilada. El Cr^{3+} producido por reducción del Cr^{6+} fue medido colorimétricamente a 590 nm (Shimadzu UV 160A) frente a una curva con distintas concentraciones de glucosa utilizada como patrón (Benito 2002, Hernández 2006).

3.3.8. Concentración total de metales pesados.

La determinación de metales pesados, en el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, se realizó mediante la digestión en agua regia (UNE-EN 13650, 2002) con 4 repeticiones por muestra. Para ello se pesó 1 g de muestra seca y finamente molida con una precisión de 0,001 g. (4 repeticiones por muestra) y se puso en un matraz de reacción de 100 ml, se adicionó 1 ml de agua destilada y luego 21 ml de ácido clorhídrico concentrado, seguido por 7 ml de ácido nítrico concentrado. Se deja unas 16 horas de reposo. Se añadió unas bolas de vidrio (para evitar la generación de espumas) y se pusieron en placa calefactora de arena cubiertos con un embudo de vidrio. Se mantuvo hirviendo durante 2 horas. El digerido se enrasó en matraz aforado de 100 ml a la vez que se filtraba con papel filtro

(Whatman 42). Los metales pesados se determinaron en el digerido por espectrofotometría de absorción atómica (AAS, Perkin Elmer Analyst 800).

3.3.9. Resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido (CPMAS ^{13}C -RMN)

El CPMAS ^{13}C -RMN (resonancia magnética nuclear del ^{13}C con polarización cruzada y spin de ángulo mágico) es un método espectroscópico útil para resolver las estructuras de compuestos del carbono en estado sólido. La RMN permite evaluar la interacción que nace entre los núcleos de átomos de carbono presentes en la muestra y el campo magnético intenso y constante producido por un imán. Los resultados de base suministrados por los equipos son los espectros que consisten un diagrama que representa señales de resonancia (Rouessac F, 2003).

Esta técnica es ampliamente utilizada en el estudio e investigación de la materia orgánica de los suelos y también se esta convirtiendo en un técnica de apoyo eficiente para la caracterización de sustancias húmicas procedentes de diferentes residuos orgánicos como son los biosólidos (Fernández, 2006)

Se acostumbra a dividir el espectro dentro de las correspondientes regiones para las clases químicas específicas, según se muestra en la tabla 8.

Tabla 8: Especie química según el espectro determinado mediante RMN (Resonancia magnética nuclear de ^{13}C)

Especie química	Región de espectro
Grupos alifáticos no sustituidos (ejemplos: alcanos, ácidos grasos)	0-45 ppm
Grupos N-alquilo (ejemplos: aminoácidos, proteínas)+ grupo metoxilo	45-60 ppm
Grupos O-alquilo (carbohidratos)	60-110 ppm
Grupos aromáticos no sustituidos y grupo alquil aromático sustituido (110-150 ppm) y grupo fenólico (150-160 ppm). Alquenos también tienen resonancia en esta región.	110-160 ppm
Grupos carboxilo (COO^-)	160-190 ppm
Grupos cetonas $\text{C}=\text{O}$ de esterés y aminas	190-200 ppm

Fuente: Stevenson, 1994.

Las muestras secas y finamente molidas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, al inicio y final del ensayo de columnas de lixiviación, fueron analizadas en el servicio interdepartamental de investigación (SIDI) de la Universidad Autónoma de Madrid. Los espectros se realizaron en un equipo Broker AV-400-WB en una sonda triple canal de 4 mm con rotores de ZrO y tapón de KeI-F a temperatura ambiente. Las muestras se emplearon sin tratamiento previo. La velocidad de giro se estableció en 14 KHz. La secuencia de pulsos empleada fue polarización cruzada (CP-MAS) ^1H - ^{13}C utilizando un ancho espectral de 35 KHz, un tiempo de contacto de 3 ms y un tiempo de relajación de 2 s, con desacoplamiento de ^1H tipo tppm 15 a 83 KHz. El número de scans acumulados fue de 28500. El desplazamiento químico se establece en ppm relativas a TMS como referencia primaria y a la señal de CH_2 del adamantano (29,5 ppm) como referencia secundaria.

3.4. ESTUDIO DE LA MOVILIDAD DE METALES PESADOS EN COMPOST DE RESTOS DE PODA +BIOSÓLIDOS Y EN COMPOST DE CORTEZA DE PINO.

3.4.1 Pretratamiento de los materiales (adición de cadmio)

Para evaluar la movilidad de metales en compost de restos de poda+biosólidos y en compost de corteza de pino, se seleccionó el cadmio (Cd) como metal modelo, debido a que este metal es uno de los más tóxicos y móviles en suelos. Además los lodos de depuradora son una de las principales fuentes de contaminación de cadmio en suelos (Alloway, 1995; McLaughlin y Singh, 1999).

Los sustratos con compost de poda+biosólidos y el de compost de corteza de pino (4 litros por tratamiento), fueron artificialmente contaminados con cadmio ($\text{CdSO}_4 \cdot 8/3 \text{ H}_2\text{O}$, Peso molecular $256,52 \text{ g mol}^{-1}$, PRS), aplicado en sólido, en las siguientes dosis:

- 0 (control)
- 80 mg Cd kg^{-1} de materia seca.
- $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de materia seca.

La selección de las dosis de Cd se justifica porque la dosis de 80 mg Cd kg^{-1} de materia seca es el doble de lo permitido por la legislación española en lodos de depuradora (R.D. 1310/90, tabla 2) y la dosis de $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ se aplicó para evaluar el comportamiento de los materiales ante un exceso de metal. Los materiales contaminados y el control fueron incubados en condiciones de laboratorio ($\sim 15^\circ\text{C}$ y 37 % humedad relativa) y mantenidos por cuatro semanas en contenedores plásticos antes de determinar el fraccionamiento químico de metales (apartado 3.4.2), la curva de desorción (apartado 3.4.3), la selección de soluciones extractantes (apartado 3.4.4) y el ensayo de columnas de lixiviación (apartado 3.5.). Periódicamente las muestras fueron homogenizadas y humedecidas con agua destilada hasta un nivel próximo a 80% de capacidad de contenedor.

Finalizado el proceso de incubación, se tomó una muestra de los materiales para determinar la concentración de cadmio mediante el procedimiento de extracción en agua regia (UNE-EN 13650, 2002) descrito en el apartado 3.3.8. La tabla 9 muestra la

concentración de cadmio en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino después de añadir 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca. El porcentaje de recuperación está comprendido dentro del rango citado por otros autores (Alonso et. al., 2002; Fuentes et. al., 2004; Walter et. al., 2006).

Tabla 9. Cadmio inicial adicionado y Cd total extraído (mg kg⁻¹ de materia seca) con agua regia en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

	Cd adicionado mg kg⁻¹	Cd extraído con agua regia mg kg⁻¹	Recuperación %
Compost de restos de poda+biosólidos	0	1,6± 0,5	-
	80	75,1±2,4	93,9
	200	201,5±8,5	100,7
Compost de corteza de pino	0	0,4±0,1	-
	80	84,5±3,7	105,6
	200	184,9±5,1	92,4

3.4.2. Fraccionamiento químico de metales pesados (Tessier)

El procedimiento de extracción secuencial de metales o de Tessier (Walter et. al, 2006) se realizó en el compost de restos de poda y compost de corteza de pino contaminado con 200 mg Cd kg⁻¹ de material seca (preparado como se describió en el apartado 3.4.1) y el correspondiente control (son adición de cadmio) para estimar el cadmio y otros metales (Cu, Zn, Mn, Fe y Pb) asociado a las fracciones intercambiable (soluble), acido-soluble (asociada a carbonatos), orgánica (asociada a materia orgánica), reducible (asociada a óxidos de hierro y manganeso) y residual (asociada a redes silicatadas).

Se empleó un gramo de muestra seca y molida (molino IKA, labortechnik) pasada a través de un tamiz de 0,500 mm (4 repeticiones por muestra), tubos de centrifuga de 50 ml (Herolab) y tubos de teflón para la fracción residual. A cada gramo de muestra se adicionó:

Fracción soluble: 8 ml de MgCl_2 1M, pH= 7,0, 20°C, agitación durante 30 minutos.

Fracción ácido-soluble: 8 ml de $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$ 1 M, pH=5,0, 20°C, agitación durante 5 h.

Fracción reducible: 20 ml de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ 0,04M en CH_3COOH 25%, 6 h a $96\pm 3^\circ\text{C}$, en baño de agua (Bunsen) con agitación esporádica.

Fracción orgánica: 6 ml de HNO_3 0,02M, 10 ml de H_2O_2 30%, 2 h a 85°C en baño de agua (Bunsen), con agitación periódica. Posteriormente se adicionó 6 ml H_2O_2 30%, 3 h a 85°C . En frío, se adicionó 10 ml de NH_4COOH 3,2M en HNO_3 20%, con agitación continua durante 30 minutos. Se enrasó a 25 ml con agua destilada.

Fracción residual: 10 ml de HF 45%, 24 h a temperatura ambiente, con digestión en placa calefactora de arena (P selecta) hasta sequedad. Posteriormente se adicionó 10ml HNO_3 65%, 5 ml HClO_4 70%, calentando hasta sequedad. La adición de $\text{HClO}_4/\text{HNO}_3$ se repitió dos veces. Se enrasó en matraz de 25 ml con agua destilada.

Para el compost de restos de poda+biosólidos, la fracción residual fue determinada por digestión en agua regia, ya que para los materiales que incluyen lodos de depuradora resulta ser más efectivo (Scancar et. al., 2000). Para ello, como se describe en el apartado 3.3.8, se adicionó 21 ml de HCl y 7 ml de HNO_3 y calentando en placa calefactora de arena (P selecta) a ebullición durante 2 horas y luego enrasadas en un matraz de 50 ml con agua destilada

En cada fracción, las muestras fueron centrifugadas a 8000 rpm (Sorval[®] RC-5C) durante 15 minutos, el sobrenadante fue decantado y filtrado (papel Whatman 42). El residuo sólido fue utilizado para el siguiente paso. Las soluciones fueron almacenadas a 4°C antes del análisis. El Cd, Cu, Zn, Mn, Fe y Pb fueron determinados por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Elmer Analyst 800).

3.4.3. Curva de desorción de cadmio.

La curva de desorción de cadmio se realizó para el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino con $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de materia seca (preparado como se indica en el apartado 3.4.1). La metodología empleada fue la descrita por Wu et. al., 2004, pero se empleó la relación volumen/volumen en lugar de

peso/peso para preparar los extractos. Para ello se realizaron cinco extractos con agua ultrapura (miliQ): 1:1, 1:5, 1:10, 1:15 y 1:20 (volumen de muestra/volumen de agua).

El volumen de muestra fue calculado según la densidad compactada de laboratorio de cada uno de los materiales (apartado 3.2.1). 10 ml de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino con $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de materia seca, fueron puestas en botes plásticos (de 250 ml) y un volumen de agua desde 10 ml a 200 ml fue adicionado de acuerdo a cada extracto (se realizaron cuatro repeticiones por muestra y extracto).

Posteriormente los extractos fueron agitados inicialmente durante 30 minutos y equilibrados por 24 horas a temperatura ambiente ($\sim 20^\circ\text{C}$). Se realizaron dos agitaciones de 30 minutos antes y 12 horas inmediatamente antes de la centrifugación. Los extractos fueron centrifugados a 3000 rpm (BHG 602) por 15 minutos y filtrados a través de un microfiltro de $0.45 \mu\text{m}$ (Millex®-HA). Las soluciones fueron almacenadas a 4°C antes del análisis. El cadmio en las soluciones fue determinado por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Elmer Analyst 800).

3.4.4. Selección de soluciones extractantes.

Con el objetivo de seleccionar soluciones extractantes de Cd, se ensayaron 8 tratamientos empleando el extracto 1:5 (v/v) para el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino con $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de materia seca (preparado como se indica en el apartado 3.4.1) Para ello 60 ml de muestra (para cálculo de masa se utiliza densidad aparente compactada de laboratorio descrita en apartado 3.2.1) + 300 ml de solución extractante (cuatro repeticiones por solución extractante), fueron puestas en botes de plástico de 500 ml, agitadas durante una hora por volteo (agitador Heidolph Reax 2) y filtradas primero empleando un papel filtro (Whatman 42) y luego por un microfiltro de $0,45\mu\text{m}$ (Millex®-HA).

La concentración de los ácidos orgánicos utilizados y ZnCl_2 fue fijada en $0,002 \text{ mol L}^{-1}$ basada en la concentración que establece el método de extracción oficial de elemento soluble con DTPA- CaCl_2 (ácido dietilentriaminopentaacético-cloruro cálcico) para mejoradores de suelo y sustratos de cultivo (UNE-EN 13651, 2002). Las soluciones extractantes incluyeron:

1. A: Agua destilada pH 6,0 y conductividad eléctrica (CE) 0,0116 dS m⁻¹
2. H: Hoagland (H), solución nutritiva, pH 5,0 y CE 2,08 dS m⁻¹
3. H+ácido cítrico de pH 3,1 y CE 1,85 dS m⁻¹
4. H+ácido gálico de pH 3,7 y CE 1,55 dS m⁻¹
5. H+ácido málico de pH 2,9 y CE 2,16 dS m⁻¹
6. H+ácido tártrico de pH 2,9 y CE 1,73 dS m⁻¹
7. H+ácido ZnCl₂ de pH 4,9 y CE 2,07 dS m⁻¹
8. DTPA-CaCl₂ de pH 2,6 y CE 4,33 dS m⁻¹

Se determinó la concentración de cadmio, pH y CE (dS m⁻¹ 25°C) en las suspensiones y se seleccionó la solución extractante con mayor concentración de cadmio en solución.

La disolución Hoagland es una disolución nutritiva comúnmente empleada en estudios de nutrición de cultivos (Barceló, 1987). Se ensayó sin adición de micronutrientes. La composición se muestra en la tabla 10.

Tabla 10: Composición de la disolución nutritiva Hoagland

Solución Hoagland y Arnon (macronutrientes)	g L ⁻¹
KNO ₃	1,02
Ca(NO ₃) ₂	0,492
NH ₄ H ₂ PO ₄	0,23
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,49
Solución Hoagland y Arnon (micronutrientes)	mg L ⁻¹
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ 4 H ₂ O	1,81
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,08
Zn SO ₄ 7H ₂ O	0,22
H ₂ MoO ₄ H ₂ O	0,09
Fe SO ₄ 7H ₂ O 0,5%	0,6 ml
Ácido tartárico 0,4%	1 a 3 veces/semana

Fuente: Barceló, 1987.

3.5. ENSAYO 1: COLUMNAS DE LIXIVIACIÓN DE Cd Y OTROS METALES PESADOS EN COMPOST DE RESTOS DE PODA+BIOSÓLIDOS Y COMPOST DE CORTEZA DE PINO

3.5.1. Diseño experimental y montaje de columnas de lixiviación

Para estudiar la lixiviación de cadmio y otros metales, desde el compost de restos de poda+biosólidos y el compost de corteza de pino tratados con 0, 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca (tratados como describe el apartado 3.4.1) fueron puestos en columnas de metacrilato (50 cm de altura por 6 cm de diámetro) según el método descrito por Eymar et. al., 2002. (fotografía 1).

En cada columna se introdujeron 750 ml de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, alcanzando una altura de aproximadamente 32-34 cm utilizando un compactador (6 g cm⁻¹) y luego se cubrieron con 7 cm de arena. En la base de cada columna se colocó una malla plástica y 7 cm de arena. Las columnas fueron puestas sobre un embudo Buchner con un papel filtro (Whatman 42) y los lixiviados colectados en matraz erlenmeyer. Para cada tratamiento se realizaron cuatro repeticiones.



Fotografía 1: Columnas para estudiar lixiviación (Eymar et. al, 2002).

Las columnas fueron mantenidas en condiciones de laboratorio (~18°C y 38% humedad relativa) durante el transcurso del ensayo. Un total de 24 columnas (2 materiales (compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino) x 3 tratamientos (0, 80 y 200 mg Cd) x 4 repeticiones) fueron regadas diariamente aplicando los tratamientos consecutivamente y en el orden que indica la tabla 11. Inicialmente se regó las columnas con 400 ml de agua destilada para humectar el material, y luego con un volumen de 100 ml de agua destilada durante 30 días, luego se regó durante 5 días con Hoagland, 5 días con Hoagland+cítrico, 5 días con Hoagland+cítrico+Zn y finalmente 5 días con DTPA-CaCl₂.

El tratamiento Hoagland es una disolución nutritiva cuya composición se muestra en la tabla 11 y se aplicó sin micronutrientes. La concentración de ácido cítrico y cloruro de zinc se fijaron en 0,4% basada en la concentración a la que se aplica el ácido tartárico, según la composición de la disolución nutritiva definida por Hoagland. La concentración de DTPA-CaCl₂ fue fijada en 0,002 mol L⁻¹ basada en la concentración que establece el método de extracción de elemento soluble en mejoradores de suelo y sustratos de cultivo (UNE-EN 13651, 2002).

El papel de filtro de las columnas fue cambiado periódicamente (fotografía 2). Las muestras de lixiviados fueron recogidas y analizadas diariamente (apartado 3.5.2).

Tabla 11: Tratamientos de riego aplicados a cada columna.

Tratamiento de riego columnas	pH	CE dS m ⁻¹ 25°C	tiempo (días)	volumen de riego (ml)
A (agua destilada)	6,0	0,001	30	100
H (Hoagland) disolución nutritiva	5,0	2,08	5	100
H+C (Hoagland+cítrico (0,4%))	2,5	3,01	5	100
H+C+Zn (Hoagland+cítrico (0,4%) + cloruro de zinc (0,4%))	2,4	3,01	5	100
DTPA (DTPA-CaCl ₂) (0,002 mol L ⁻¹)	2,6	4,33	5	100

CE: conductividad eléctrica



Fotografía 2: Cambio de papel de filtro de las columnas de lixiviación.

3.5.2. Análisis de lixiviados (metales pesados, macronutrientes, pH, conductividad eléctrica y relación de absorbancias a 465/665 nm

Los lixiviados de las columnas con compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino (con 0, 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca) fueron recolectados diariamente, determinando el volumen, pH y conductividad eléctrica. Se almacenaron en botes y mantenidos a 4°C hasta el análisis de cadmio y otros metales.

- **Cd y otros metales pesados, macronutrientes, pH y conductividad eléctrica**

El Cd, Cu, Zn, Mn, Fe, Ca, Mg y K mediante espectrofotometría de absorción atómica (AAS, Perkin Elmer Analyst 800). El pH de los lixiviados fue determinado directamente mediante electrodos (Orion 720A), la conductividad eléctrica empleando un conductímetro (Crison CM 2200), y

- **Absorbancias 465 nm y 665 nm de los lixiviados.**

La metodología empleada es una adaptación del procedimiento descrito por Stevenson (1994) donde la muestra sólida es tratada previamente con NaHCO₃ para luego determinar la relación E₄/E₆, que es utilizado como índice de humificación de la materia orgánica.

Para determinar la relación de absorbancias 465/665 nm se tomaron unos 10 ml de lixiviados durante los 6 primeros días (4 repeticiones), de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino (tratamiento 0 mg Cd), se centrifugaron a 3000 rpm (Hettich, Rotofix 32) y se leyeron directamente las absorbancias a 465 nm y 665 nm en espectrofotómetro (Milton Roy, Spectronic 20D). Luego se determinó el cociente medio entre los valores de absorbancia a 465 nm y los valores de absorbancia a 665 nm.

3.5.3. Análisis del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino al final del ensayo de lixiviación.

Al final del experimento, después aplicados todos los tratamiento de riego (tabla 11) se realizó una digestión con agua regia del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, según el método descrito en el apartado 3.3.8, con el objetivo de determinar el cadmio retenido en las columnas. Además, también al final del ensayo, se realizó el análisis CPMS RMN de ^{13}C , descrito en el apartado 3.3.9, de los materiales para evaluar los cambios de la materia orgánica después de aplicados los tratamientos de riego.

3.6. ENSAYO 2: SELECCIÓN DE PLANTAS TOLERANTES EN CRECER EN SUSTRATO CONTAMINADO CON CADMIO.

Este ensayo de selección de plantas tiene como objetivo seleccionar plantas tolerantes a crecer en sustratos contaminados con metales pesados, en este caso por cadmio. Para ello, primero se seleccionó como sustrato el compost de corteza de pino, debido a que este material presentó el cadmio en la forma más soluble, según el fraccionamiento químico de Tessier (descrito en el apartado 3.4.2).

3.6.1. Criterio de selección y descripción de plantas

La selección de especies para este ensayo se ha realizado teniendo en cuenta:

- a) Que sean arbustos perennifolios
- b) Autóctonos de la zona mediterránea
- c) De crecimiento rápido, alta generación de biomasa y facilidad de rebrote
- d) Su presencia en la Comunidad de Madrid o zonas limítrofes.

Según este criterio fueron seleccionados los siguientes 4 arbustos (Sigüero, 1999; López, 2002;):

1. *Atriplex halimus* L. (Orzaga)

Es un arbusto elevado, que suele medir 1-2,5 (3) m de altura, que consta de varias ramas desde la base, con el tronco a veces fuertemente engrosado, de corteza blanquecina o cenicienta y hojas que se mantienen durante el invierno; todo él presenta un color blanco plateado muy característico, que se debe a que casi todos sus órganos están cubiertos de diminutas escamitas blanquecinas. Florece en el verano y principios del otoño, de junio a octubre o incluso hasta diciembre.

Se encuentra en los terrenos salinos; al pie de los cerros yesosos o de margas ricas en sales, en los suelos áridos y esteparios que acumulan sales fácilmente en superficie, en los matorrales costeros, marismas, etc., a veces sobre suelos arenosos o como maleza en bordes de caminos; desde el nivel del mar hasta unos 550 (incluso 1000) m de altitud. Se cultiva con cierta frecuencia como ornamental y para formar setos.

2. *Phillyrea latifolia* L. (Labiérnago prieto, labiérnago negro, olivilla)

Es un arbusto o pequeño arbolillo que se mantiene verde todo el año y puede llegar a medir hasta 6-8 m, de altura; las ramas tienen la corteza blanquecina o cenicienta, lisa o algo arrugada, y las más jóvenes están casi siempre cubiertas de abundantes pelos. Las hojas nacen enfrentadas, son correas, de color verde intenso por el haz, más pálidas por la cara inferior, con forma que varía desde la figura de un huevo a la de una elipse o a la de un hierro de lanza, y las que nacen en las plantas o ramas jóvenes son más redondeadas y con el borde aserrado. Florece de abril a junio; los frutos maduran al final del verano o en otoño.

Se encuentra en los encinares y otros bosques esclerófilos, así como en los matorrales que resultan de su destrucción; muchas veces entre rocas o en suelos pedregosos; requiere un clima suave, en el que no se deje sentir mucho el rigor del invierno, y es indiferente al tipo de sustrato, ya que vive tanto en los silíceos como en los calcáreos, Se cultiva a veces como planta ornamental.

3. *Rhamnus alaternus* L. (Aladierno, sanguino):

Es un arbusto o pequeño arbolillo de 1-5 m de altura, verde todo el año, de corteza grisácea, que en las ramillas jóvenes se tiñe a veces de rojo. Su forma es muy variable, ya que lo mismo puede aparecer como un arbusto achaparrado, de ramas retorcidas y tortuosas, que convertirse en un arbolillo elegante, con ramas largas y rectas. Lo mismo puede decirse de sus hojas, que son siempre alternas, lampiñas, muy coriáceas y lustrosas, de color más pálido por el envés, pero de tamaño y forma muy variable. Florece a finales del invierno o en primavera; los frutos maduran al final del verano o en el otoño.

Se encuentra en todo tipo de terrenos, calizos o silíceos, formando parte de los matorrales altos desarrollados en el ambiente de los encinares, alcornoques y otros bosques esclerófilos; poco exigentes, aguanta bien los terrenos pedregosos e incluso puede vivir en las grietas de las rocas. Se cultiva como planta ornamental.

4. *Rosmarinus officinalis* L. (Romero):

El romero es un arbusto verde todo el año, con ramas de color pardusco, que suele medir 0,5-1,5 m de altura, aunque a veces puede alcanzar los 2 metros. Se

ramifica profusamente, y sus ramas de jóvenes son algo cuadradas, y están cubiertas de pelillos blanquecinos. Tiene numerosas hojas, muy densas, estrechas y casi cilíndricas, ya que su borde se revuelve hacia atrás; carecen casi de peciolo, son correosas, de un color verde lustroso por el haz, y blancas, por estar cubiertas de abundantes pelillos, por su cara inferior. Florece casi todo el año.

Se encuentra en todo tipo de terrenos, aunque suele preferir los calcáreos, desde el nivel del mar hasta los 1.500 m de altitud en las montañas más cálidas; forma parte de los matorrales que se desarrollan en sitios secos y soleados, principalmente en ambiente de encinar; suelos degradados por tala o quema y laderas pedregosas y erosionadas. Se cultiva con frecuencia como planta aromática y ornamental: es muy adecuada para formar setos. Se multiplica por esqueje.

3.6.2. Pre-tratamiento del sustrato

Al compost de corteza de pino se le adicionó $100 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de materia seca (CdSO_4 PRS) y se incubó por 4 semanas antes del transplante de las especies vegetales. Después de la incubación la concentración de Cd total con agua regia del material (apartado 3.3.8.) fue de $94,6 \pm 17,6 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ materia seca.

La dosis de 100 mg Cd kg se seleccionó como un valor intermedio según las dosis utilizadas en el ensayo de columnas de lixiviación (apartado 3.4.1) y debido a que la dosis aplicada a suelos de $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ en plantas de *Brassica juncea* causó problemas de crecimiento (Ghosh y Singh, 2005).

3.6.3. Diseño experimental

El ensayo se levó a cabo en régimen de semi-invernadero en la Universidad Autónoma de Madrid. Se utilizó un umbráculo que consta de una malla de rafia de polietileno con 50% de sombreo. Se transplantaron las especies (*Atriplex halimus*, *Phillyrea angustifolia*, *Rhamnus alaternus* y *Rosmarinus officinalis*) en macetas de plástico de 1,6 L, 36 plantas con 2 tratamientos: compost de corteza de pino y compost de corteza de pino+Cd.

El ensayo se situó sobre mesas de plásticas (0,80 x 1,20 m) provistas de un orificio central por donde evacuaban los lixiviados a un contenedor (fotografía 3). Se colocaron 28 macetas por mesa y distribuidas en dos sectores (compost de corteza de

pino a la derecha y compost de corteza de pino+Cd izquierda), como muestra la fotografía 4. El ensayo se realizó durante los meses julio, agosto y septiembre 2006. El seguimiento del crecimiento vegetal se realizó mediante la evaluación de peso fresco, peso seco, altura y relación peso seco parte aérea/raíz en el momento que se realizó el muestreo destructivo de tejidos vegetales (a los 35 días y 70 días de iniciado el ensayo) para determinar concentración total de Cd en hoja, tallo y raíz según el procedimiento de digestión de muestras vegetales descrito en el apartado 3.9.



Fotografía 3: Contenedores para recolectar lixiviados de plantas cultivadas en compost de corteza de pino contaminado con $100 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ materia seca.



Fotografía 4: Aspecto general del ensayo de selección de plantas cultivadas en compost de corteza de pino+ $100 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ materia seca (izquierda) y control (sin adición de cadmio) (derecha).

3.6.4. Riego y controles del cultivo en exterior

Para regar las plantas se utilizó un sistema riego por goteo. Los goteros eran de 2 L h⁻¹, y se empleó una bomba centrífuga de 0,5 caballo de vapor. Diariamente, a cada maceta se le aplicó un volumen de riego de ~200-220 ml (7 minutos de riego) durante el mes de julio y en el mes de agosto se regó dos veces por día. En el riego se aplicó disolución nutritiva Hoagland diluida al 25% sin micronutrientes (tabla 10). La disolución fue almacenada en tanque de uralita plástica de 1000 L

Las temperatura y humedad relativa registrada durante el período de crecimiento fueron medidos con un sensor (HOBO, data logger) y se muestran en la tabla 12.

Tabla 12: Temperatura (°C) y humedad relativa (%) media registrada en el umbráculo durante el ciclo de cultivo.

		Temperatura °C	Humedad relativa %
Julio 06	diurna	32,5±8,3	32,4±11,8
	nocturna	20,3±3,6	45,2±16,1
Agosto 06	diurna	31,1±8,0	31,1±10,6
	nocturna	19,0±3,5	46,0±12,4
Septiembre 06	diurna	27,8±7,7	33,1±11,5
	nocturna	17,4±4,6	51,7±17,8

3.6.5. Análisis de la solución nutriente del sustrato extraída mediante sondas de succión rhizon y de lixiviados.

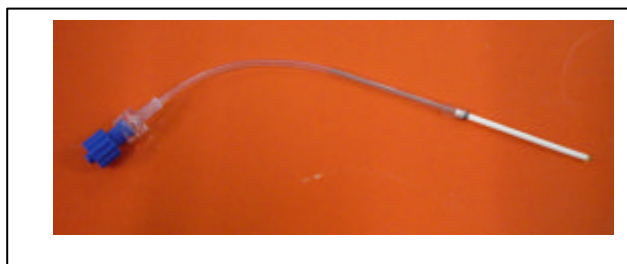
La composición de la solución nutriente extraída mediante sondas de succión rhizon y de los lixiviados del sustrato se muestra en la tabla 13. El cadmio en la disolución se mantuvo en una media de 0,2 mg L⁻¹, siendo mayor la concentración en los lixiviados. También la concentración de cationes fue similar en la disolución nutriente que en los lixiviados.

Tabla 13: Análisis de la solución nutriente extraída mediante sondas de succión y lixiviados del sustrato. Valores medio en los 70 días de ensayo de selección de plantas.

	pH	CE	Cd	Ca	Mg	K
		dS m ⁻¹ 25°C	mg L ⁻¹			
Solución nutritiva del sustrato (extraída mediante sondas)	4,9±0,3	0,9±0,2	0,2±0,04	40,9±11,9	16,7±5,0	99,0±26,4
Lixiviados	4,1±0,2	0,8±0,1	0,3±0,1	31,0±6,1	15,9±4,5	87,1±23,0

CE: Conductividad eléctrica

Las sondas de succión rhizon (fotografía 5)(Eijkelkamp Agrisearch Equipment) constan de un tubo fabricado con un polímero hidrófilo químicamente inerte, de dimensiones 2.5 mm de diámetro externo, 1,4 mm de diámetro interno y un diámetro de poro medio de 0.1 μm . Poseen un alambre de acero inoxidable dentro que sirve de soporte. El tubo de 5 cm de largo esta unido a otro tubo de PVC de 2.7 mm de diámetro externo, 1.0 mm de diámetro interno y 5 cm de largo terminado en un conector para unirlo a otros tubos alargadores. A la sonda se le acopló una jeringuilla plástica de 5 ml. Después de una hora de riego (tiempo para interacción fase sólida y fase líquida del sustrato) se extrajo la muestra aplicando vacío con el pistón de la jeringuilla, siguiendo la metodología descrita por Cabrera (1998). Las muestras de las disoluciones nutrientes del sustrato fueron almacenadas en tubos de policarbonato de 10 ml y determinados el pH, conductividad eléctrica, Cd y Ca, Mg y K.



Fotografía 5: Sondas de succión rhizon empleadas para obtener muestra *in situ* de la solución nutriente del sustrato.

3.7. ENSAYO 3: EVALUACIÓN DE COMPOST DE RESTOS DE PODA+BIOSÓLIDOS COMO SUSTRATO DE CULTIVO PARA EL *ROSMARINUS OFFICINALIS*.

3.7.1. Tratamiento previo de lavado del compost de restos de poda+biosólidos

Antes de iniciar el ensayo 3, se realizaron pruebas previas de transplante, para evaluar el comportamiento de las plantas de *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* cuando eran puestas directamente en el compost de restos de poda+biosólidos. El exceso de salinidad provocó la muerte de las plantas en un par de días (fotografías 6 y 7), por lo cual se realizó un tratamiento de lavado del compost de restos de poda + biosólidos para disminuir el exceso de sales. Para ello se dispuso el material en contenedores de 250 litros (fotografía 8) y se procedió a lavarlos con agua potable del grifo mediante una manguera.

La conductividad eléctrica de los lixiviados fue controlada a la salida del tanque. El lavado finalizó cuando la conductividad eléctrica de los lixiviados fue alrededor de 2,0 dS m⁻¹(fotografía 9). Fue utilizado un volumen estimado de 3 m³ para lavar 1000 L de compost.



Fotografía 6: *Rosmarinus officinalis*. Efecto de la elevada salinidad inicial del compost de restos de poda + biosólidos (izquierda)



Fotografía 7: *Atriplex halimus*. Efecto de la elevada salinidad inicial del compost de restos de poda+biosólidos (derecha).



Fotografía 8: Lavado del compost de restos de poda+biosólidos.



Fotografía 9: Control de pH y conductividad eléctrica de los lixiviados durante el lavado.

3.7.2. Diseño experimental y descripción de tratamientos (compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino)

El ensayo consistió en comparar parámetros de crecimiento de *Rosmarinus officinalis* cultivado en:

1. **Compost de restos de poda+biosólidos previamente lavado (apartado 3.7.1).**
2. **Compost de corteza de pino.**

Las plantas fueron puestas en mesas de fibrocemento (0,8 x 8,0 m) en contenedores de 5 L (12 contenedores por m²) con 50 plantas por tratamiento. El ensayo se mantuvo 7 meses (de noviembre del 2006 a junio del 2007). Se realizaron 5 tomas de muestra destructiva de planta. En cada muestreo se tomaron 6 plantas por tratamiento. El seguimiento del crecimiento vegetal se realizó mensualmente mediante la evaluación de altura, peso fresco, peso seco, y relación peso seco parte aérea/raíz. También mensualmente se realizó el muestreo destructivo de tejidos vegetales para determinar concentración total de micronutrientes Cu, Zn, Mn y Fe; y macronutrientes Ca, Mg, N, P, K en hoja, tallo y raíz según el procedimiento de digestión de muestras vegetales descrito en el apartado 3.9. Quincenalmente se tomó muestra de la solución nutriente del sustrato extraída mediante sondas de succión rhizon (apartado 3.6.5) y se determinaron pH, conductividad eléctrica, Ca, K y Mg.

El aspecto de las plantas crecida en el tratamiento compost de corteza de pino se muestra en la fotografía 10.



Fotografía 10: Aspecto de *Rosmarinus officinalis* en el tratamiento compost de corteza de pino.

3.7.3. Riego y controles del cultivo en invernadero

Las plantas fueron regadas utilizando sistema de riego por goteo aplicando disolución nutritiva Hoagland al 50% sin micronutrientes (tabla 10). Los goteros eran de 2 L h⁻¹, y se empleó una bomba centrífuga de 0,5 caballo de vapor. La humedad del sustrato se controló con tensiómetros (Irrometer CO, Riverside, CA). Se observó que el compost de restos de poda+biosólidos requirió más riego (24 horas después del riego la tensión para el compost de restos de poda+biosólidos fue de -10 kPa y para compost de corteza de pino -5kPa). En la tabla 14 se muestra el volumen estimado diario de riego para compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino. Las temperatura y humedad relativa registrados durante el período de crecimiento del cultivo fueron medidas con un sensor (HOBO, data logger) (tabla 15).

Tabla 14. Estimación del volumen diario de riego (ml) de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino durante el transcurso del ensayo.

	Mes	Riego	Frecuencia (veces/semana)	Tiempo Riego (min)	Riego (ml) por contenedor
Compost de restos de poda+biosólidos	Dic-Feb	Agua	4	5	161,9±7,1
Compost de corteza de pino				5	143,1±22,0
Compost de restos de poda+biosólidos	Mar	Hoagland al 50%	diario	7	226,7±10,0
Compost de corteza de pino				5	143,1±22,0
Compost de restos de poda+biosólidos	Abr May	Hoagland al 50%	diario	10	323,8±20,0
Compost de corteza de pino				7	286,1±44,0
Compost de restos de poda+biosólidos	Jun	Hoagland al 50%	diario	20	687,1±7,1
Compost de corteza de pino				15	429,1±12,3

Tabla 15: Temperatura (°C) y humedad relativa (%) media registrados durante el período de crecimiento.

		Temperatura °C	Humedad relativa %
Dic 06	Diurna	19,9±8,5	33,5±10,8
	Nocturna	4,6±3,5	60,5±5,4
Enero07	Diurna	15,6±10,1	35,3±11,4
	Nocturna	4,0±3,9	85,0±9,2
Febrero 07	Diurna	19,9±8,5	33,5±10,8
	Nocturna	7,6±2,9	54,5±6,1
Marzo 07	Diurna	23,0±9,8	28,1±7,1
	Nocturna	9,6±3,4	35,2±10,4
Abril 07	Diurna	24,6±8,8	25,0±3,1
	Nocturna	12,9±2,4	26,3±3,3
Mayo 07	Diurna	26,7±9,2	28,4±7,5
	Nocturna	13,8±3,0	41,3±16,5
Junio 07	Diurna	28,2±8,5	28,6±6,3
	Nocturna	15,8±2,6	38,2±8,4

3.8 ENSAYO 4: MOVILIDAD DE METALES PESADOS EN *ROSMARINUS OFFICINALIS* Y *ATRIPLEX HALIMUS* CULTIVADOS EN COMPOST DE RESTOS DE PODA+BIOSÓLIDOS

3.8.1. Diseño experimental y descripción de tratamientos (Hoagland y Hoagland+cítrico)

En este ensayo se evaluó la movilidad de metales pesados en compost de restos de poda+biosólidos cuando fueron aplicados dos tratamientos de fertirrigación:

1. **Tratamiento Hoagland:** riego con disolución nutritiva Hoagland al 50% sin micronutrientes (tabla 10)
2. **Tratamiento Hoagland+cítrico:** riego con disolución nutritiva Hoagland al 50% sin micronutrientes +ácido cítrico (4 g L⁻¹). La concentración de ácido cítrico se estableció según la concentración de ácido que recomienda la disolución modelo de la tabla 10.

Para cada uno de los tratamientos se transplantaron 34 plantas de *Atriplex halimus* y de *Rosmarinus officinalis*, en compost de restos de poda+biosólidos (previamente lavado como se describió en el apartado 3.7.1).

Las plantas fueron puestas en mesas de fibrocemento (1,20 x 8,0 m) en contenedores de 5 L (15 contenedores por m²). El ensayo se mantuvo 7 meses (de noviembre de 2006 al junio de 2007). Se regó con agua hasta marzo. A partir del mes de abril se inició la aplicación de los tratamientos de riego. Se realizaron 5 tomas de muestras destructivas de planta. En cada muestreo se tomaron 6 plantas por tratamiento. Se realizaron determinaciones mensuales de altura y quincenales de la solución nutritiva del sustrato mediante sondas de succión (fotografía 11).



Fotografía 11: *Rosmarinus officinalis*. Control de humedad con tensiómetro y de la solución nutriente del sustrato de mediante sondas de succión rhizon.

3.8.2. Riego y controles de cultivo en invernadero

Para aplicar los tratamientos de riego, se utilizaron 2 tanques, uno con Hoagland y otro con Hoagland+cítrico. La aplicación conjunta de la disolución nutritiva con el ácido cítrico produjo un incremento del crecimiento microbiano, por lo que se realizó un cambio en el dispositivo experimental. A partir de mayo se instaló un tanque en el que se añadió sólo ácido cítrico (fotografía12). Para todos los tratamientos se utilizó un sistema de riego por goteo, con goteros de 2 L h^{-1} y empleando bombas centrífugas de 0,5 caballo de vapor.



Fotografía 12: Tanque 3 del ácido cítrico y bombas centrífugas del sistema de riego.

En la figura 4 se muestra el esquema del dispositivo de riego. El tanque 1 aplicaba disolución Hoagland diluida al 50% a todas las plantas. El tanque 3 aplicaba ácido cítrico a las plantas de tratamiento Hoagland+cítrico. El tanque 2 aplicaba agua a

las plantas del tratamiento Hoagland, equivalente al volumen aplicado de ácido cítrico. Se instalaron dos goteros por maceta, uno aplicaba Hoagland y el otro ácido cítrico o agua dependiendo del tratamiento (fotografía 11). La solución de cítrico fue renovada cada dos días.

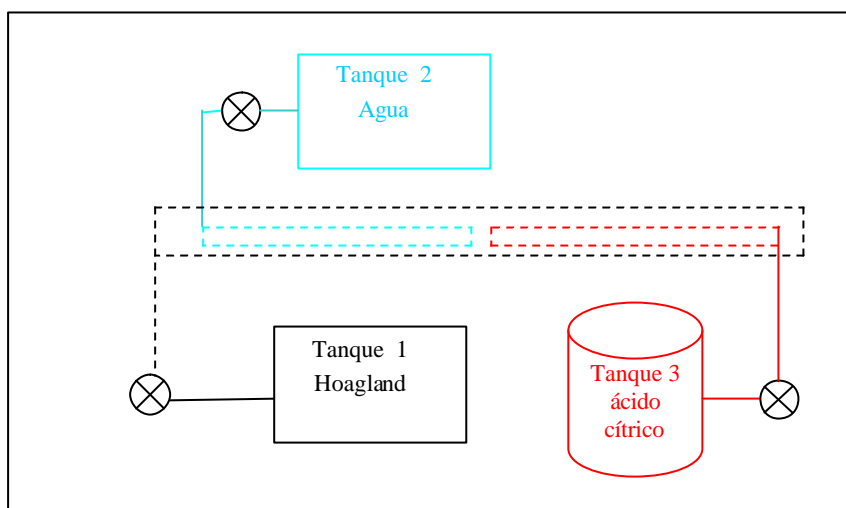


Figura 4: Esquema de la disposición de los tanques de riego para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.

Las condiciones de temperatura y humedad relativa de este ensayo son iguales al ensayo 3 y se muestran en la tabla 15. El volumen estimado de riego en la tabla 16.

Tabla 16. Estimación del volumen diario de riego (ml) de compost de restos de poda+biosólidos para ensayo de movilidad de metales.

	Mes	Frecuencia veces/semana	Tiempo Riego (min)	Riego (ml) por contenedor
Agua	Dic-Feb	4	5	161,9±7,1
Hoagland al 50% Hoagland al 50%+ácido cítrico 0,4%	Mar	diario	7	226,7±10,0
Hoagland al 50% Hoagland al 50%+ácido cítrico 0,4%	Abr May	diario	10	323,8±20,
Hoagland al 50% Hoagland al 50%+ácido cítrico 0,4%	Jun	diario	20	687,1±7,1

En la fotografía 13 se muestra el aspecto inicial del ensayo. En la tabla 17 se muestran algunas datos de referencia de concentraciones de metales pesados y macronutrientes *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus*, a los cuales se hace cita en el apartado de resultados y discusión.

Tabla 17: Concentración de referencia de macronutrientes (%) y metales pesados (mg kg⁻¹ materia seca) en parte aérea de *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus*.

	<i>Rosmarinus officinalis</i> ^a	<i>Atriplex halimus</i> ^b
Ca (%)	0,48-0,69	1,15-2,15
Mg (%)	0,17-0,40	1,04-2,03
N (%)	2,09-2,52	2,10 ^c
P (%)	0,26-0,35	0,14-0,19
K (%)	2,36-2,55	2,55 ^c
Cu (mg kg ⁻¹)	2-23	13,0 ^c
Zn (mg kg ⁻¹)	39-106	11,0-103,0
Mn (mg kg ⁻¹)	22-76	116,0-395,0
Fe (mg kg ⁻¹)	39-106	21,8 ^c

^a Mills, H.A 1991

^b Niekerk et. al., , 2004.

^c Sameni y Soleimani, 2007



Fotografía 13. Aspecto inicial del ensayo. *Atriplex halimus*. Diciembre 2006.

3.8.3. Análisis de las disoluciones nutritivas y test enzimático de ácido cítrico

Los rangos de pH, conductividad eléctrica y macronutrientes de disolución nutritiva de los tanques de riego para este ensayo se muestran en la tabla 18.

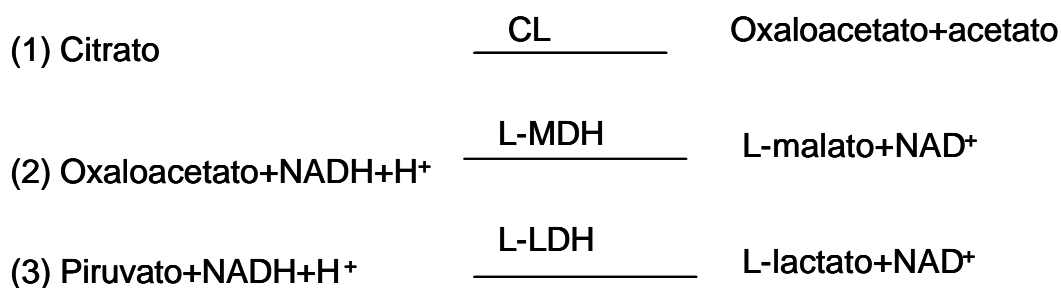
Tabla 18: Disolución nutritiva de los tanques de riego.

		Tratamiento	pH	CE dS m ⁻¹ 25°C	Ca	Mg mg L ⁻¹	K
abril 07	tanque 1	Hoagland	5,8±0,4	1,20±0,2	59,3±7,9	27,0±9,6	200,3±33,6
	tanque 2	Hoagland+cítrico	2,7±0,7	1,71±0,5	51,9±14,7	23,5±8,3	171,6±55,0
mayo 07	tanque 1	Hoagland	6,2±0,3	1,51±0,1	77,8±1,8	33,7±0,2	210,4±4,3
	tanque 2	Agua	6,6±0,3	0,16±0,1	11,9±0,2	3,0±0,9	4,3±0,4
	tanque 3	Ácido cítrico	2,8±0,2	1,38±0,1	15,3±5,4	3,7±1,9	6,5±4,2
junio 07	tanque 1	Hoagland	6,3±0,4	1,68±0,1	65,0±1,8	34,4±0,6	223,9±4,3
	tanque 2	Agua	6,6±0,2	0,09±0,0	9,2±2,8	2,1±0,6	3,8±1,2
	tanque 3	Ácido cítrico	2,9±0,2	1,47±0,1	8,0±1,0	1,8±0,3	2,2±0,1

CE: Conductividad eléctrica

Ácido cítrico

El control de la concentración de ácido cítrico se determinó aplicando un test enzimático (R-biopharm). El ácido cítrico (citrato) es convertido en oxaloacetato y en acetato en una reacción catalizada por la enzima citrato liasa (CL). En presencia de las enzimas L-malato deshidrogenasa (L-MDH) y lactato deshidrogenasa (L-LDH), el oxaloacetato y su producto descarboxilado, el piruvato, son reducidos a L-malato y L-lactato respectivamente por la nicotinamida dinucleótido adenina en forma reducida (NADH). La cantidad de NADH oxidada en las reacciones (2) y (3) es estequiométricamente igual a la cantidad de citrato presente en la muestra. Se determinó espectrofotométricamente el NADH midiendo la absorbancia en longitudes de onda 340 nm.



En una cubeta de cuarzo de 1,5 ml se agregó 0,500 ml de solución 1 (L-MDH, L-LDH y NADH) + 0,100 ml de muestra (diluida 10 veces) y 0,900 ml de agua ultrapura (miliQ). Se hizo un blanco de la misma forma pero sin la muestra. Se mezcló, se esperó 5 minutos y se leyeron las absorbancias a 340 nm (A₁). Luego se

agregó a la cubeta 0,015 ml de solución 2 (CL). Se mezcló y después de 5 minutos se leyó las absorbancias a 340 nm (A_2). Las diferencias de absorbancias se calculó según:

$$\Delta A = (A_1 - A_2)_{\text{muestra}} - (A_1 - A_2)_{\text{blanco}}$$

Luego se aplicó la siguiente fórmula dada por el test:

$$C_{\text{citrate}} = 0,4636 \times \Delta A = \text{g L}^{-1}$$

Mediante este test se hizo un seguimiento de la concentración de ácido cítrico. Se comprobó que se produjo una disminución de la concentración de ácido cítrico como consecuencia del incremento microbiano en la disolución nutritiva junto con el ácido cítrico. (tabla 19). Después de aislar el ácido cítrico en otro tanque, la concentración durante el ensayo se mantuvo en una concentración alrededor de 4 g L^{-1} .

Tabla 19: Concentración de ácido cítrico g L^{-1} (como citrato) durante el ensayo.

	Tratamiento	Ácido cítrico g L^{-1}
abril 07	Hoagland+ cítrico	$1,63 \pm 1,20$
mayo 07	Ácido cítrico	$4,00 \pm 0,23$
junio 07	Ácido cítrico	$3,61 \pm 0,14$

3.9. DIGESTIÓN Y ANÁLISIS DE MUESTRAS VEGETALES

3.9.1. Determinación de metales y macronutrientes.

Las plantas utilizadas en los ensayos 2,3 y 4, se separaron en raíz y parte aérea (hoja y tallo). El peso fresco se determinó directamente pesando la parte aérea en balanza con precisión 0,001g (Mettler, PB 303). Posteriormente se siguió un procedimiento de lavado de parte aérea y raíz con agua destilada. Se secaron al aire y luego se pusieron en una estufa con aire forzado a $65^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ (Memert) hasta peso constante. Se separó la parte aérea en hoja y tallo y se pesó (peso seco).

Las muestras vegetales se molieron empleando un molinillo (IKA, Labortechnik) provisto de un tamiz de acero inoxidable de 0,5 mm.

Las muestras vegetales secas y molidas fueron digeridas empleando un digestor de microondas (CEM, Mars Xpress), siguiendo el siguiente procedimiento:

Se pesaron 0,5 g de muestra, con precisión 0,001 g, y se pusieron en los tubos de teflón del digestor. Luego se adicionó 6 ml de HNO_3 concentrado, se agitó suavemente, y después de 15 minutos se agregó 3 ml de H_2O_2 (peróxido de hidrógeno) al 30% volviendo a agitar suavemente. La temperatura y tiempos de digestión se muestran en la tabla 20.

Tabla 20: Condiciones de digestión de muestra vegetal en digestor de microondas (CEM, Mars Xpress).

Etapas	Potencia (W)	Tiempo rampa (min)	Temperatura $^{\circ}\text{C}$	Tiempo de digestión (min)
1	1200	40	200	15
2	1200	1	210	15
3	1200	1	220	20

Una vez enfriado el digerido, se filtró (Whatman 42) y se enrasó en un matraz aforado de 25 ml (a 10 ml para el ensayo 4 (movilidad de metales)). Posteriormente en este digerido se determinaron los metales Cd, Cu, Zn, Mn, Fe y Pb y macronutrientes (Ca, Mg, K) por espectrofotometría de absorción atómica de llama y cámara de grafito para el Cd. (AAS, Perkin Elmer Analyst 800).

- Determinación de fósforo

El fósforo total en planta se determinó en el digerido de la muestra vegetal (apartado 3.9.1) y luego el fósforo se determinó por método colorimétrico tal como se describió en apartado 3.3.1.

- Determinación de nitrógeno

El nitrógeno en planta se determinó por el método Kjeldhal. Se pesaron 0,100 g de muestra seca y molida con precisión de 0,01 g. Se pone en un tubo Kjeldhal y se añadió 0,5 g de mezcla catalizadora finamente molida (mezcla catalizadora 100 g K_2SO_4 + 2g Se) y 5 mL de H_2SO_4 concentrado. Se calentó progresivamente en manta calefactora (Block Digest 12, Selecta), según el tiempo y temperatura de la tabla 21. Una vez frío el digerido, sin filtrar, se enrasó en un matraz aforado de 50 ml, lavando el matraz Kjeldhal al mismo tiempo. La determinación de nitrógeno se realizó por método colorimétrico descrito en el apartado 3.3.1.

Tabla 21: Condiciones de digestión de muestras vegetales en bloque digestor (Block Digest 12, Selecta).

Etapa	Temperatura °C	Tiempo de digestión (min)
1	150	60
2	300	120
3	350	140

3.9.3. Factor de bioacumulación e índice de transporte a parte aérea

Algunos índices que se utilizan para evaluar la capacidad de las plantas de absorber metales en estudios de contaminación, son el factor de bioacumulación e índice de transporte a la parte aérea (Ghosh y Singh, 2005).

El factor de bioacumulación (FB) es un indicador de la capacidad de la planta para acumular un metal particular con respecto a la concentración que presenta en el suelo o sustrato, y se calcula:

$$FB = \frac{\text{Concentración de metal en el tejido de la planta (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentración inicial de metal en el sustrato (mg kg}^{-1}\text{)}}$$

El índice de transporte (T) a la parte aérea, señala la capacidad de la planta a traslocar el metal desde las raíces a la parte aérea. Cuando es mayor a 1 indica que la planta concentra más en hoja que en raíz el metal estudiado y se calcula:

$$T = \frac{\text{Concentración de metal en hoja (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentración de metal en raíz (mg kg}^{-1}\text{)}} \times 100$$

3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PROGRAMAS INFORMÁTICOS UTILIZADOS

Todos los datos fueron analizados usando programa de análisis SPSS v. 13.00. Las medias fueron comparadas usando ANOVA de un factor con el test de Duncan con una significación $p = 0,05$, utilizando desviación estándar para determinar la variabilidad de las medidas.

La solución nutriente del sustrato del tratamiento Hoagland+cítrico (ensayo 4), se modelizó con el programa de especiación MINTEQ (versión 2.53) para evaluar las especies químicas complejadas por el ácido cítrico. Para ello se ingresaron al programa los datos obtenidos con las sondas de succión rhizon. Se utilizó una media aritmética, entre las soluciones nutrientes de *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus*. Los datos que se utilizaron para el programa fueron las concentraciones de macronutrientes Ca, Mg y K (130,7; 37,9 y 142,4 en mg L^{-1} respectivamente), micronutrientes de Zn, Mn y Fe (0,106; 3,342 y 7,325 en mg L^{-1} respectivamente), con un valor de pH de la solución nutriente de 5,4 y una concentración teórica de la solución de ácido cítrico de 4 g L^{-1} . Una vez estos datos el programa calcula el porcentaje de cada elemento complejado con el citrato.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE COMPOST DE RESTOS DE PODA+BIOSÓLIDOS Y COMPOST DE CORTEZA DE PINO

En este primer apartado se presentan los resultados de la caracterización de las propiedades físicas de los sustratos empleados en los ensayos. Dichas propiedades son de gran importancia cuando se evalúa un material como sustrato, ya que una vez puesto en un contenedor, son difíciles de modificar. (Ansorena, 1994). Las propiedades hidrofísicas, se relacionan con el porcentaje de agua y aire presente en el sustrato, cuando son aplicadas distintas succiones, y permiten estimar el manejo del riego.

Se analizaron además las propiedades químicas que caracterizan la transferencia de materia entre fase sólida y líquida del material y se relacionan principalmente con reacciones de intercambio de iones, de hidrólisis de constituyentes minerales y de reacciones de degradación de la materia orgánica (López-Cuadrado, 2006)

4.1.1. Propiedades físicas del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino

La humedad, densidades y porosidad del compost de restos de poda+biosólidos y del compost de corteza de pino se muestran en la tabla 22. La humedad del compost de restos de poda+biosólidos resultó un poco menor del habitual encontrado en este tipo de materiales (Benito, 2002), lo cual indica una baja humedad durante el compostaje o excesivo tiempo de almacenamiento del producto final. La densidad aparente seca del compost de restos de poda+biosólidos es superior al del compost de corteza de pino y al nivel de referencia, esto se relaciona con la mineralización del producto y la presencia de fracción mineral procedente del lodo de EDAR (Estación depuradora de aguas residuales)

La densidad real para ambos materiales está dentro de los niveles de referencia. La densidad aparente compactada de laboratorio fue mayor en el compost de restos de poda+biosólidos, pero no fue superior al nivel de referencia. La porosidad total en compost de restos de poda+biosólidos fue menor al nivel de referencia y menor que en el compost de corteza de pino. Wilson et. al., (2002), también obtuvo una mayor densidad en compost de restos de poda+biosólidos (1:1 v/v) cuando comparó resultados con un sustrato constituido por corteza de pino.

Tabla 22: Características físicas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

	Humedad (%)	Densidad aparente seca kg m^{-3}	Densidad real kg m^{-3}	DAKL g L^{-1}	Porosidad total %
Compost de restos de poda+biosólidos	32,6	440	1900	488,6	75
Compost de corteza de pino	56,2	260	1590	357,4	84,9
Niveles de referencia	35-45 ¹	<400 ²	1450-2650 ²	<600 ³	>85 ²

¹Benito, 2002; ²Ansorena, 1994; ³Cruz, 2006.

DAKL: Densidad aparente compactada de laboratorio.

El compost de restos de poda+biosólidos es más seco que el compost de corteza de pino y más denso (con densidad aparente seca, densidad real y densidad aparente compactada de laboratorio superior). Inicialmente y teniendo en cuenta las referencias para su utilización como sustrato de cultivo (Ansorena, 1994; Benito, 2002), el compost de restos de poda+biosólidos presenta valores inferiores de porosidad, que podría plantear problemas de aireación en las raíces del cultivo, por ello para aumentar la porosidad, otros autores utilizaron este material mezclado con turba y perlita (López-Cuadrado, 2006).

La distribución del tamaño de partículas en compost de restos de poda+biosólidos y del compost de corteza de pino se muestra en la tabla 23 y figura 5. El índice de grosor en el compost de restos de poda+biosólidos fue menor que en el compost de corteza de pino, es decir, que el compost de restos de poda+biosólidos tiene una mayor composición de partículas finas. Un menor tamaño de partícula hace que disminuya la porosidad total (tabla 22) y proporciona una mayor superficie específica para las reacciones químicas (Porta, 2003). También López-Cuadrado (2006) obtuvo un menor índice de grosor en sustratos que incluyeron restos de poda+biosólidos comparados con sustratos de corteza de pino. Se recomienda que el mayor porcentaje del tamaño de partículas esté comprendido entre 0,25 y 2,50 mm para materiales que van a ser empleados como sustratos de cultivo (Ansorena, 1994).

Tabla 23: Distribución del tamaño de partículas (% p/p) en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

Tamaño de partículas mm.	0-0,25	0,25-0,5	0,5-1,0	1,0-2,0	2,0-4,0	4,0-8,0	Índice grosor
Compost de restos de poda+biosólidos	34,3	23,5	24,0	14,9	3,3	0,0	18,2
Compost de corteza de pino	33,8	16,3	20,0	13,0	14,8	2,0	27,8

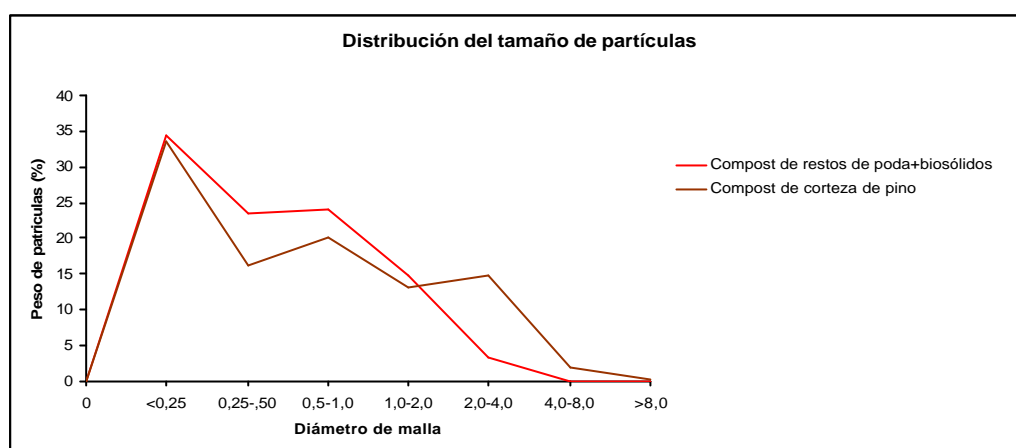


Figura 5: Distribución del tamaño de partículas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

Las propiedades hidrofísicas de los materiales se muestran en la tabla 24. En general, ambos materiales presentan valores dentro de los niveles de referencia. El compost de restos de poda+biosólidos presenta valores menores que el compost de corteza de pino para todos los parámetros hidrofísicos. López-Cuadrado (2006) adicionó al compost de restos de poda+biosólidos un 33% de turba y 33% de perlita, obtuvo un 88,7% de porosidad total, 23,7% de agua fácilmente disponible, un 3,5% de agua de reserva y un 28,6% de capacidad de aireación.

Respecto al valor de contracción fue menor en el compost de restos de poda+biosólidos, lo que indica que este material mantiene su volumen en mayor porcentaje que el compost de corteza de pino.

Tabla 24 Principales características hidrofísicas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

	Agua fácilmente disponible (% vol)	Agua de reserva (% vol)	Capacidad de aireación (% vol)	Contracción (%)
Compost de restos de poda+biosólidos	29,3	2,3	12,2	11,1
Compost de corteza de pino	33,4	5,6	16,2	17,7
Niveles de referencia (Ansorena,1994)	20-30	4-10	10-30	<30

En la práctica, el compost de restos de poda+biosólidos como sustrato de cultivo de plantas en contenedor, necesitó un mayor volumen de riego que el compost de corteza de pino, atribuible a un menor porcentaje de agua fácilmente disponible y agua

de reserva. Sin embargo, teniendo en cuenta una menor porosidad total y diámetro de partículas del compost de restos de poda+biosólidos, la tendencia sería a encharcarse. Pero considerando la mayor presencia de microporos en este material, el agua se adhiere con más fuerza a las partículas del sustrato haciendo que el agua no se libere en el intervalo de 1-10 kPa, correspondiente al agua útil.

A pesar de que algunas propiedades físicas del compost de restos de poda+biosólidos no están dentro de los rangos de referencia (densidad aparente seca y porosidad), la diferencia no es muy grande y se podría utilizar como sustrato sin mezcla con otros componentes.

4.1.2. Propiedades químicas del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

El pH, la conductividad eléctrica y elementos solubles del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino en extracto saturado se muestran en la tabla 25. El pH de sustrato de corteza de pino es menor. López-Cuadrado (2006) para este material obtuvo en el extracto 1:5 un pH de 5,3 atribuyendo a la adición de fibra de madera (pH entre 4,1-5,1) el menor pH del compost de corteza de pino comparado con otros materiales.

La conductividad eléctrica es mayor a los niveles de referencia para ambos materiales. El compost de restos de poda+biosólidos presentó altas concentraciones solubles de potasio, sodio, nitratos y cloruros como es la tendencia de los materiales que contienen lodos de depuradora (Merrington et al., 2003). Se observan concentraciones similares de Ca y Mg en ambos materiales, mientras que el fósforo es superior en compost de corteza de pino debido a la adición de fertilizantes (apartado 3.1.1).

Recientemente Zmora-Nahum et al., (2007) analizaron unos 30 compost de distinta composición (restos vegetales (corteza de pino, fibra de madera, restos de poda, etc), animales y residuos urbanos) y procedencia, encontrando un rango de pH (extracto 1:10) entre 5,3-8,4 y de conductividad eléctrica (extracto 1:10) entre 0,56 y 8,70 dS m⁻¹. Lo que indica que las características químicas que los materiales compostados son altamente variables.

Tabla 25: pH, conductividad eléctrica (dS m⁻¹ 25°C) y elemento soluble (mg L⁻¹ de extracto saturado del sustrato) de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

Parámetros en extracto saturado del sustrato	Compost de restos de poda+biosólidos	Compost de corteza de pino	Niveles de referencia en extracto saturado ¹
pH	7,2	4,0	5,2-6,3
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹ 25°C)	7,04	3,83	0,75-3,49
Ca (mg L ⁻¹)	304,7	305,3	>200
Mg (mg L ⁻¹)	149,1	114,8	>70
Na (mg L ⁻¹)	234,0	76,5	-
K (mg L ⁻¹)	1568,2	570,8	150-249
NO ₃ (mg L ⁻¹)	1200,2	144,1	100-199
Cl (mg L ⁻¹)	1523,0	199,7	-
P (mg L ⁻¹)	26,3	75,3	6-10

¹ Ansorena, 1994.

La tabla 26 muestran las características químicas relacionadas con la materia orgánica y el contenido de nitrógeno de los materiales. El grado de estabilización de la materia orgánica es importante para determinar la movilidad de metales pesados (Cai et. al, 2007).

Tabla 26: Contenido total de materia orgánica, nitrógeno, relación C/N, capacidad de intercambio catiónico, extracto húmico total y carbono hidrosoluble en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

	Compost restos de poda+biosólidos	Compost corteza de pino
Materia orgánica total (%)	47,5	80,5
Carbono orgánico total (COT) (%)	27,6	46,8
N total Kjeldahl (%)	1,82	0,70
C/N	15,1	66,8
Capacidad de intercambio catiónico efectiva (cmol _c kg ⁻¹)	66,7	24,5
Extracto húmico total (EHT) %	17,2	13,6
EHT/COT (%)	62,3	29,9
Carbono hidrosoluble (mg kg ⁻¹)	203,5	30,5

El porcentaje de materia orgánica total del compost de restos de poda+biosólidos fue mucho menor que en compost de corteza de pino, lo que indica que este material tiene una importante fracción inorgánica. López-Cuadrado (2006) para el compost de restos de poda+biosólidos (con 33% de perlita y 33% de turba) obtuvo un 36,1% de materia orgánica, mientras que para el compost de corteza de pino obtuvo un 80,3% de materia orgánica. Zmora-Nahum et. al., (2007), obtuvieron un rango entre 18-86% de

materia orgánica entre 30 compost analizados, lo que pone de manifiesto que el contenido de materia orgánica en materiales compostados es altamente variable y dependiente de sus materiales de partida.

El nitrógeno total fue mayor en el compost de restos de poda+biosólidos que en compost de corteza de pino, esto se explica por una mayor concentración de nitratos del producto, atribuibles a la naturaleza del material, lodos de EDAR (estación de depuradoras de aguas residuales). Benito (2002) también obtuvo niveles similares nitrógeno en compost de restos de poda (1,55%) y López-Cuadrado (2006) para el compost de restos de poda+biosólidos (con 33% de perlita y 33% de turba) obtuvo un 1,12 %.

La relación C/N del compost de restos de poda+biosólidos fue mucho menor que en el compost de corteza de pino. Una relación C/N por debajo de 20 es indicativa para considerar un compost maduro (Benito, 2002). También una C/N < 40 se considera adecuada para utilizar un sustrato como medio de cultivo, aunque dependerá de la naturaleza del material (López-Cuadrado, 2006). Esta misma autora obtuvo valores altos de C/N para el compost de corteza de pino (93,1), atribuyendo a componentes lignocelulósicos una mayor relación C/N indicando que no hay riesgo para la planta si el material está estabilizado.

La capacidad de intercambio catiónico efectiva, que se determina al pH del material, fue mayor en el compost de restos de poda+biosólidos que en compost de corteza de pino. Una menor capacidad de intercambio catiónico en el compost de corteza de pino puede ser debido al bajo grado de disociación de los grupos COOH y OH de la materia orgánica de este material, que a pesar de un alto contenido (80,5%) en materia orgánica, pero bajo valor de pH no tiene la capacidad de retener cationes. Benito (2002) obtuvo una capacidad de intercambio catiónico entre 66,3 y 114,2 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ para compost de restos de poda.

A pesar de tener casi el doble de materia orgánica que el compost de restos de poda+biosólidos, el compost de corteza de pino tiene un menor extracto húmico total, esto quiere decir que la materia orgánica y sustancias húmicas presente en este material no son solubles en alcáli, lo que indica que el compost de corteza de pino hay un mayor porcentaje de humina y material no humificado que en el compost de restos de poda+biosólidos.

La relación EHT/COT fue mayor en el compost de restos de poda+biosólidos que el compost de corteza de pino, que junto a una menor relación C/N indican que el compost de restos de poda+biosólidos es un material más maduro y humificado que el compost de corteza de pino. Un bajo grado de madurez de la materia orgánica podría liberar metales en formas más lábiles y ser más disponibles para la plantas (Huyn et. al., 1998).

Se obtuvo una mayor concentración de carbono hidrosoluble para el compost de restos de poda+biosólidos comparado con el compost de corteza de pino, atribuible a un mayor contenido de glúcidos, polisacáridos y péptidos sencillos provenientes de los biosólidos. Zmora-Nahum et al., (2007), relacionaron una menor concentración de azúcares con el mayor grado de madurez, pero en el caso de los restos de poda+biosólidos no se observó esta correlación.

Cai et al., (2007), encontraron que el compost de biosólidos+cascarilla de arroz con una baja relación C/N, contenido alto de sustancias húmicas y cenizas, mostró una movilidad menor de metales pesados comparado con otros materiales.

La concentración total de metales pesados fue mayor en el compost de restos de poda+biosólidos que en el compost de corteza de pino (tabla 27). La concentración total de metales pesados en ambos compost no excedieron los límites permitidos para usar estos materiales como enmienda orgánica. Según la concentración de Cd y Pb presentes en el compost de restos de poda+biosólidos puede considerarse este material como enmienda orgánica de clase B (tabla 3).

Cai et. al., (2007), encontraron concentraciones similares de Cd y Pb en compost de biosólidos+cascarilla de arroz (Cd 1,86-1,95 y Pb 66-168 mg kg⁻¹ materia seca). Es destacable el contenido alto de hierro en el compost de restos de poda+biosólidos. Concentraciones similares fueron obtenidas por Alonso et. al., (2002) en lodos de depuradora.

Tabla 27: Concentración total de metales pesados (mg kg^{-1} materia seca) en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

	Compost restos de poda+biosólidos	Compost Corteza de pino
Cd (mg kg^{-1})	1,6	0,4
Cu (mg kg^{-1})	124,2	7,1
Zn (mg kg^{-1})	205,7	26,4
Mn (mg kg^{-1})	183,8	93,3
Fe (mg kg^{-1})	8733,3	2664,8
Pb (mg kg^{-1})	101,1	12,1

En resumen, los resultados de las caracterización química indican que el compost de restos de poda+biosólidos tiene un mayor pH, conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico efectiva y mayor carbono hidrosoluble; y menor porcentaje de materia orgánica y relación C/N que el compost de corteza de pino. Es importante destacar que el compost de restos de poda+biosólidos presenta una alta concentración de metales pesados comparado con el compost de corteza de pino, sin embargo los niveles no sobrepasan los permitidos por la legislación para su uso agrícola.

Desde el punto de vista de adsorción de metales una mayor capacidad de intercambio catiónico es una característica química muy importante que indica una mayor capacidad de retener cationes. Por lo tanto, cabría esperar que el compost de restos de poda+biosólidos tenga una mayor capacidad de retener metales que el compost de corteza de pino.

4.1.3. Fraccionamiento químico de metales pesados (Tessier) en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

El fraccionamiento químico o extracción secuencial de metales pesados fue realizada en el compost de restos de poda y compost de corteza de pino, con el objetivo de determinar en qué fracción (soluble, asociada a carbonatos, asociada a Fe y Mn, asociada a materia orgánica o asociada a la fracción residual) se encuentra el cadmio antes y después de adicionar $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de materia seca.

En la tabla 28 se observa que en el compost de restos de poda+biosólidos sin contaminar (tratamiento 0 con $1,6 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ materia seca) el cadmio se encontró principalmente en la fracción asociada a carbonatos. Se obtuvo un porcentaje de

recuperación entre 82,2-120,0%, dentro del rango obtenido por otros autores (Alonso et. al., 2002; Fuentes et. al., 2004; Walter et. al., 2006).

Después de adicionar 200 mg de Cd al compost de restos de poda+biosólidos, el cadmio se asoció significativamente en mayor concentración a la fracción orgánica seguido de la fracción de óxidos de Fe y Mn.

Shuman et al. (2002), en un suelo artificialmente contaminado con 50 mg Cd kg⁻¹ materia seca, agregaron compost de biosólidos y encontraron que el cadmio asociado a la materia orgánica aumentaba a medida que aumentaban la adición de compost, disminuyendo la biodisponibilidad de las plantas. Bolan et al (2003) también en un suelo artificialmente contaminado con 100 mg Cd kg⁻¹ materia seca, agregaron compost de biosólidos+restos vegetales, encontrando el Cd principalmente asociado a la materia orgánica y concluyendo que este compost fue muy efectivo en complejar el cadmio.

En el compost de corteza de pino (tabla 28), sin contaminar (tratamiento 0 con 0,4 mg Cd kg⁻¹ materia seca) el cadmio se encontró principalmente asociado a la fracción soluble y a carbonatos. El porcentaje de recuperación fue alto y es atribuible al error por las bajas concentraciones. Después de adicionar 200 mg de Cd, el cadmio se mantuvo también en una significativamente mayor concentración asociado a la fracción soluble de este material. Esto indica que en el compost de corteza de pino el Cd está en forma más biodisponible.

Tabla 28: Fraccionamiento químico de Cd (mg kg⁻¹ materia seca) en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino antes y después la adición de 200 mg Cd.

	Tratamiento (Cd adicionado en mg kg ⁻¹ m.s.)	Soluble o cambiable	Asociada a carbonatos	Asociada a óxidos de Fe y Mn	Asociada a materia orgánica	Residual	Suma	% R
Compost restos de poda+ biosólidos	0	0,4±0,1	0,9±0,0	0,2±0,0	0,0±0,0	0,1±0,0	1,50	93,7
	200	33,0±1,3a	26,6±1,4b	44,8±2,5c	57,4±2,1d	2,7±0,4e	164,5	82,3
Compost corteza de pino	0	0,28±0,0	0,26±0,0	0,0	0,0	0,0	0,54	120,0
	200	84,7±1,7a	34,2±0,3b	37,7±1,7b	14,6±0,9c	7,4±1,0d	178,5	89,3

%R: porcentaje de recuperación. Diferentes letras, en filas, indican diferencias significativas entre las fracciones de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$).

En la figura 6 se muestran los resultados del fraccionamiento químico del cadmio, en porcentaje, del compost de restos de poda+biosólidos. Se observa que un

56,3% del cadmio en el control (sin adición de cadmio) (figura 6a) se encontró asociado a la fracción de carbonatos. Cuando se adicionó 200 mg cadmio (figura 6b), el porcentaje más alto, 28,7% ,de este metal se encontró asociado a la fracción orgánica. Esta fracción estaba ausente en el control y después de la adición de cadmio fue la principal en asociarlo, lo que indica el importante papel que cumple la materia orgánica en este material. Alonso et. al., (2002) obtuvieron similares resultados para compost de lodo de depuradora (pH 6,5 y con contenido total de cadmio entre 3,19-5,2 mg kg⁻¹ de materia seca) con un 33-43% de cadmio asociado a la materia orgánica. Otros autores han obtenido un menor porcentaje de cadmio asociado a la fracción orgánica. Zhang et. al., (2004) para un compost de lodos de depuradora y restos de poda (pH 6,9 y con contenido total de cadmio de 2,12 mg kg⁻¹ de materia seca) encontraron un 18,5% de cadmio asociado a la materia orgánica.

La segunda fracción importante en asociar el cadmio en el compost de restos de poda+biosólidos, fue la correspondiente a los óxidos de hierro y manganeso. El compost de restos de poda+biosólidos presenta un contenido mineral importante (tablas 26) y alta concentración de Fe y Mn y (tabla 27). En el control (sin adición de cadmio) del compost de restos de poda+biosólidos un 11,3% del cadmio se encontró asociado a esta fracción (figura 6a) y después de la adición de cadmio, este porcentaje subió a 22,4% (figura 6b). Otros autores han obtenido un mayor porcentaje, Illera (1998) obtuvo para lodos de depuradora (pH 8,6 y contenido de cadmio de 2,2 mg kg⁻¹ de materia seca) un 55% de cadmio asociado a la fracción de óxidos de Fe y Mn.

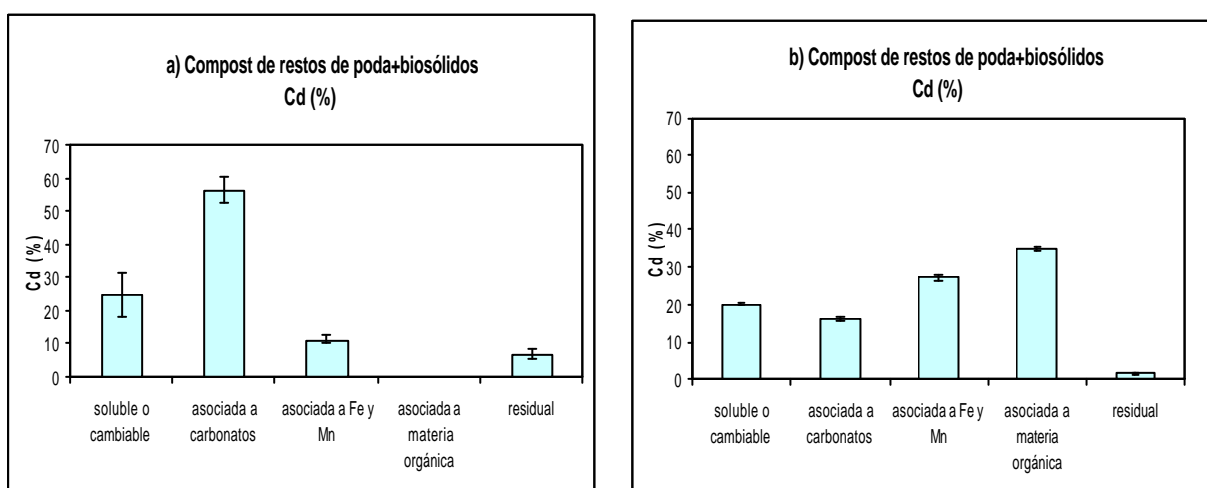


Figura 6: Fraccionamiento químico del cadmio en compost de restos de poda+biosólidos a) tratamiento 0 Cd (control) y b) tratamiento de adición de 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca.

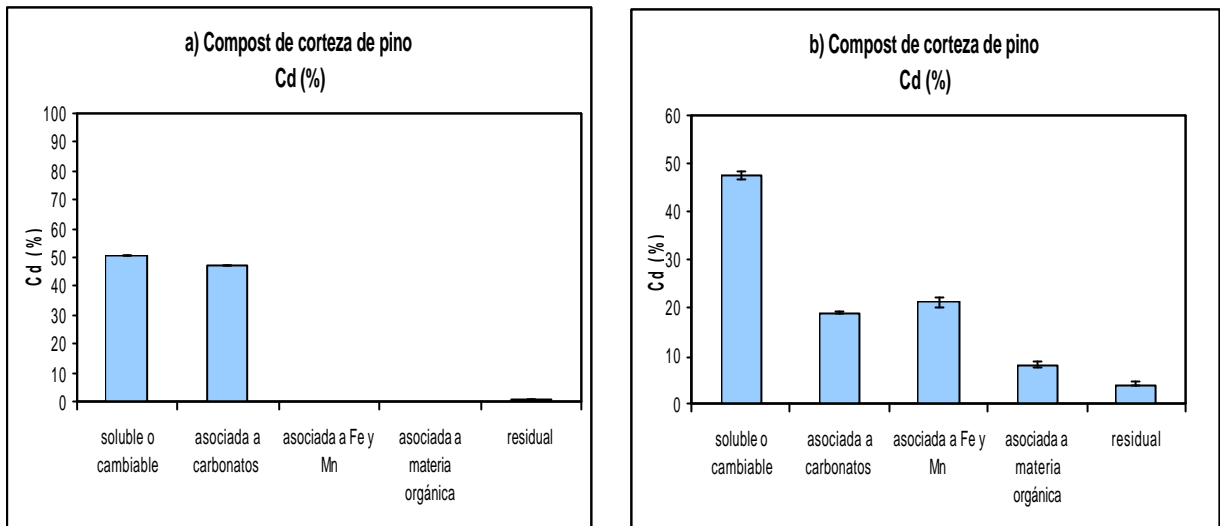


Figura 7: Fraccionamiento químico del cadmio en compost de corteza de pino a) tratamiento 0 Cd (control) y b) tratamiento de adición de 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca.

El cadmio en la fracción soluble del compost de restos de poda+biosólidos, antes y después de adicionar cadmio, se mantiene en alrededor de un 25-20% respectivamente.

En el control del compost de corteza de pino (sin adición de cadmio) (figura 7a) el cadmio se encontró fundamentalmente en las dos primeras fracciones soluble y asociada a carbonatos y después del tratamiento con 200 mg de Cd, un 47,4% el Cd se encontró asociada a la fracción soluble de este material (figura 7b). El compost de corteza de pino tiene un alto contenido de materia orgánica (tabla 26) sin embargo, esta fracción no fue la más importante en asociar el cadmio. La alta concentración de cadmio en la fracción soluble o intercambiable son resultados normalmente obtenidos cuando un metal en forma de sal es agregado a un material para simular contaminación, el metal no reacciona completamente con el material y gran proporción permanece o precipita en la solución (Shuman et. al., 2002). Sin embargo, a pesar de haber agregado un exceso de sulfato de cadmio (200 mg Cd kg⁻¹ de material seca) en el compost de restos de poda+biosólidos, la distribución de cadmio no fue más alta en la fracción soluble (20,1%, figura 6b) pero si fue la más alta en el compost de corteza de pino con un 47,4% (figura 7b).

También otros metales pesados fueron determinados mediante la extracción secuencial en el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino conteniendo 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca. En el compost de restos de

poda+biosólidos se encontró una mayor concentración de Cu, Zn y Pb asociado a la materia orgánica, mientras que el Mn a la fracción de óxidos de Fe y Mn, y el Fe a la fracción residual. (tabla 29) Illera (1998) y Walter et, al., (2006) también encontraron el Cu y el Pb asociados en mayor concentración a la fracción orgánica en lodos de depuradora. Cai et. al., (2007) encontraron un 70% de Cu asociado a materia orgánica en compost de biosólidos con cascarilla de arroz. En la fracción soluble del compost de restos de poda+biosólidos se encontró un 0,48% de Cu, 0,19% de Zn, 7,6% de Mn, 0,03% de Fe y 7,1% de Pb.

Tabla 29: Fraccionamiento químico de metales pesados en compost de restos de poda+biosólidos contaminados con 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca.

	Total	Soluble o cambiante	Asociada a carbonatos	Asociada a óxidos de Fe y Mn	Asociada a materia orgánica	Residual	Suma	% R
	mg kg ⁻¹ materia seca							
Cu	124,2	0,6±0,0	1,0±0,0	2,7±0,5	80,0±4,0	20,6±1,1	104,9	84,5
Zn	205,7	0,4±0,0	13,8±0,4	84,5±3,9	117,6±2,2	13,6±1,8	229,9	111,7
Mn	183,8	14,0±0,1	28,0±0,3	56,7±1,0	22,3±1,9	26,2±2,5	147,2	80,3
Fe	8733,3	2,8±0,1	7,4±0,4	394,7±10,1	2443,8±66,5	3394,4±294,1	6243,0	71,4
Pb	101,1	7,7±0,3	2,4±0,2	2,0±0,0	62,8±4,5	5,0±0,0	79,9	79,0

%R: porcentaje de recuperación

En el compost de corteza de pino (tabla 30), se encontró una mayor concentración de Cu, Zn, Fe y Pb asociados a la fracción residual mientras que un 32,9% de Mn se encontró asociado a la fracción soluble, donde también se encontraron 8,5% de Cu, 20,5% de Zn, 0,2 % de Fe y 3,3% de Pb.

Tabla 30: Fraccionamiento químico de metales pesados en compost de corteza de pino contaminado con 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca.

	Total	Soluble o cambiante	Asociada a carbonatos	Asociada a óxidos de Fe y Mn	Asociada a materia orgánica	Residual	Suma	% R
	mg kg ⁻¹ materia seca							
Cu	7,1	0,6±0,0	0,4±0,1	0,2±0,0	1,1±0,0	3,5±0,9	5,8	81,6
Zn	26,4	5,4±1,2	2,8±0,2	1,8±0,6	4,5±0,6	10,1±0,2	24,6	93,1
Mn	93,3	30,7±0,3	12,3±0,6	8,9±0,3	2,8±0,4	20,1±4,1	74,8	80,1
Fe	2664,8	5,8±1,3	1,8±0,5	41,5±1,7	406,5±73,3	1562,5±123,7	2018,1	75,7
Pb	12,1	0,4±0,0	1,6±0,3	0,3±0,1	1,8±0,3	8,5±0,0	12,6	104,1

Estos resultados indican que el tipo de materia orgánica en el compost de restos de poda+biosólidos cumple un papel importante en asociar el exceso de cadmio

adicionado y además otros metales. Mientras que en compost de corteza de pino, la materia orgánica no mostró capacidad de asociar el cadmio, encontrándose este metal principalmente soluble (47,4%), lo que es atribuible a una baja capacidad de intercambio catiónico efectiva, bajo valor de pH (4,0) y menor grado de humificación de la materia orgánica comparado con el compost restos de poda+biosólidos (tabla 26).

Desde un punto de vista agronómico, los resultados del fraccionamiento químico de metales pesados, indican que en el compost de corteza de pino el Mn y el Zn, están más biodisponible para las planta que en el compost de restos de poda+biosólidos.

4.1.4. Resonancia Magnética Nuclear en estado sólido de ^{13}C (CPMAS RMN)

Para caracterizar la materia orgánica del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino fueron realizados espectros mediante la técnica de resonancia magnética nuclear en estado sólido de ^{13}C (CPMAS RMN). Los resultados se muestran en la tabla 31.

Tabla 31: Área relativa (porcentaje del área total) de los grupos funcionales de la materia orgánica determinado por CPMAS RMN ^{13}C para compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

Desplazamiento químico (d)	Tipo de C enlazado	Compost de restos de poda+biosólidos	Compost de corteza de pino
		%	
0 < d = 45	Alifático	21,5	7,2
45 < d = 60	N-alquilo	7,8	4,5
60 < d = 93	O-alquilo	37,9	48,3
93 < d = 110	Di-O-alquilo	11,5	12,9
110 < d = 140	Aromático	6,7	14,2
140 < d = 160	Fenólico	7,1	9,5
160 < d = 190	Carboxilo	6,7	2,1
190 < d = 220	Cetonas/amidas	0,7	1,3

Ambos materiales presentan un alto porcentaje de grupos O-alquilo que indican principalmente la presencia de glúcidos, atribuibles a la composición vegetal de los materiales (restos de poda y corteza de pino). Preston y Forrester (2004) obtuvieron espectros similares para compost en base a corteza de pino, señalando que alta intensidad en grupos o-alquilos se debía a una importante composición en lignina.

Las diferencias más destacables entre ambos materiales se localizan en los picos de grupos alifáticos y carboxilos, siendo ambos mayores en el compost de restos de poda+biosólidos (figura 8). Vaca-Paulín et al., 2006, indicaron que un mayor carácter alifático de los lodos de depuradora probablemente reflejaba el origen acuático del

material y que la estabilidad de los lodos es dominada por la presencia de grupos alquilos (en espectro ~30 ppm) (Merrington et. al., 2003). Los ácidos húmicos y fúlvicos han mostrado mediante esta técnica tener más carácter alifático (Stevenson, 1994). También los grupos alifáticos indican la presencia de ácidos grasos, lo que en el compost de restos de poda+biosólidos, es atribuible a su contenido de aceites y grasas provenientes de los lodos de depuradora. La materia orgánica de los lodos está constituida principalmente por grasas y aceites solubles en éter, proteínas y lignina, también ácidos húmicos, hemicelulosas y componentes hidrosolubles. Dependiendo del tratamiento del lodo, pueden contener 3% de celulosa, 4% de hemicelulosa, 12% de lignina y entre 4-20% de lípidos en peso seco (Illera, 1998).

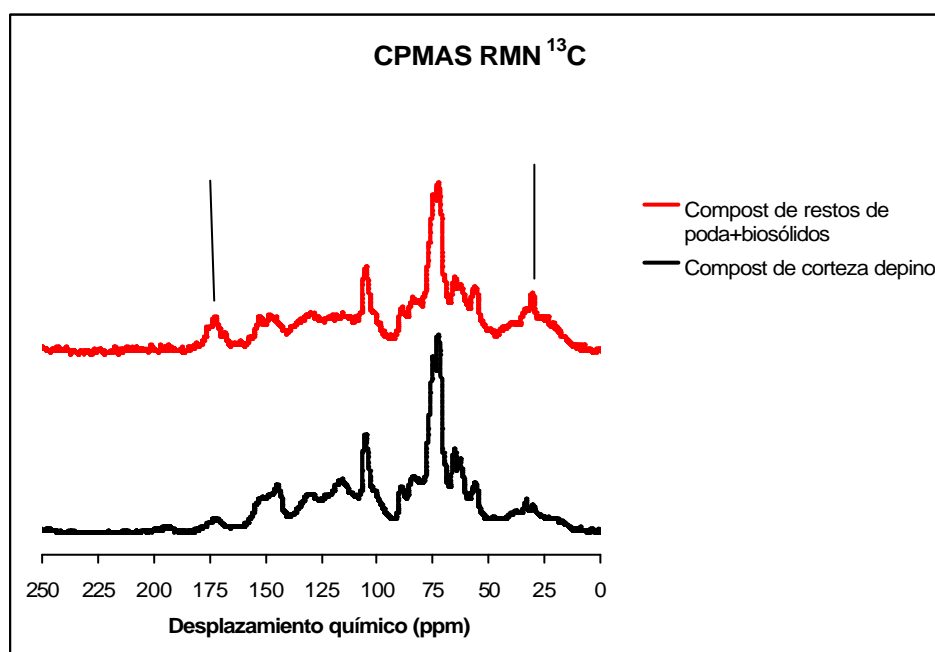


Figura. 8: CPMAS RMN de ^{13}C de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino. Las flechas indican las principales diferencias en los desplazamientos químicos entre ambos materiales.

El compost de restos de poda+biosólidos presenta tres veces más grupos carboxilo que el compost de corteza de pino. Un mayor porcentaje de grupos carboxilos y pH puede explicar una mayor capacidad de intercambio catiónico efectiva en el compost de restos de poda+biosólidos (tabla 26) y por lo tanto una mayor capacidad de la materia orgánica de fijar el cadmio, como indican los resultados del fraccionamiento

químico de Tessier (figura 6b) y otros metales pesados (tabla 29) que en el compost de corteza de pino (figura 7b y tabla 30).

El compost de corteza de pino presentó una mayor composición de grupos aromáticos y fenólicos que en compost de restos de poda+biosólidos. Preston y Forrester (2004) atribuyeron a la suberina, el carácter alifático y fenólico, y a los taninos el carácter aromático en la corteza de pino. También ciertas resinas ácidas presentes en la corteza de pino pueden contribuir a la intensidad de los grupos alquilo, aromáticos y carboxílicos. Estos resultados podrían indicar que en el compost de la corteza de pino existen numerosos compuestos aromáticos y fenólicos, altamente solubles en agua y que pueden formar complejos solubles con el Cd.

Los resultados de la caracterización de la materia orgánica de los materiales, indican que un mayor % de grupos alifáticos y carboxilos del compost de restos de poda+biosólidos, parecen ser los responsables de una alta capacidad de asociar el cadmio y otros metales pesados de la fracción orgánica, como mostraron los resultados del fraccionamiento químico de Tessier.

4.1.5. Curva de desorción de cadmio

Con el objetivo de evaluar el comportamiento de desorción de cadmio en el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino se realizó una curva de desorción de Cd siguiendo la metodología descrita en el apartado 3.4.3 de material y métodos. Se emplearon el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino contaminados con 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca. Las curvas obtenidas se muestran en la figura 9.

Las curvas presentan una tendencia exponencial decreciente que se ajustan a la función: $y = ax^{-b}$; donde y es la concentración de cadmio en el extracto en $\mu\text{g L}^{-1}$ con los diferentes grados de dilución x ; a es el intercepto de la regresión logarítmica cuando $x=1$; b es la pendiente de la ecuación logarítmica y caracteriza la tendencia a disminuir la concentración de cadmio con el grado de dilución siendo inversamente relacionada con la capacidad tampón. Wu et al., (2004) obtuvieron también esta ecuación para curvas de desorción de suelos, a los cuales aplicaron lodos con 2 mg Cd kg⁻¹ materia seca, para distintos extractos en relación peso/peso y donde las concentraciones de Cd fueron mucho menores (20-25 $\mu\text{g L}^{-1}$).

En la curva del compost de corteza de pino, al inicio, la desorción de cadmio fue casi diez veces mayor ($3031,6 \mu\text{g L}^{-1}$) que en el compost de restos de poda+biosólidos ($310,8 \mu\text{g L}^{-1}$) (figura 9). Esto puede ser atribuible a que el cadmio en el compost de corteza de pino se encontró asociado principalmente a la fracción soluble (47,4%, figura 7b) en cambio en el compost de restos de poda+biosólidos el cadmio soluble fue menor (20%, figura 6b). Luego a medida que aumenta el grado de dilución, la concentración de cadmio para ambos materiales se hace más o menos constante.

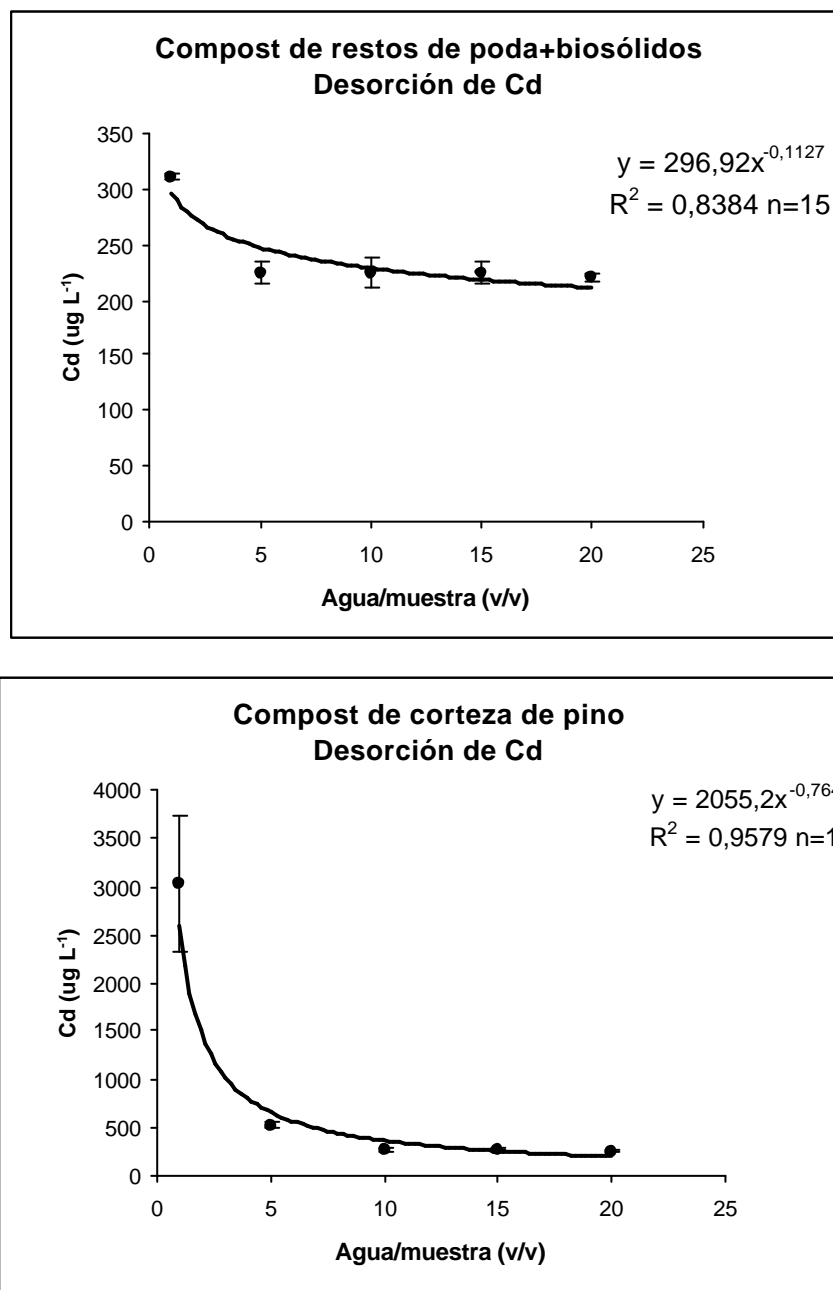


Figura 9: Curva de desorción de cadmio de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino conteniendo $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ materia seca. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones

Se observa que en la ecuación de la curva, el valor de b es mayor en el compost de corteza de pino (0,76) que el compost de restos de poda+biosólidos (0,11) (figura 9). Esto indica que el compost de corteza de pino tiene una mayor tendencia a disminuir la concentración de cadmio con el grado de dilución y una menor capacidad tampón que el compost de restos de poda+biosólidos. Esto puede ser explicado porque el compost de corteza de pino tiene una menor capacidad de intercambio catiónico efectiva ($24,5 \text{ cmol}_+ \text{ kg}^{-1}$) que en el compost de restos de poda+biosólidos ($66,7 \text{ cmol}_+ \text{ kg}^{-1}$) (tabla 26). El compost de restos de poda+biosólidos contiene un porcentaje mayor de grupos carboxilos (6,3%), que aumentan la capacidad de intercambio catiónico, comparados con el compost de corteza de pino (2,5%), según los resultados obtenidos en el análisis de RMN (tabla 31).

Si consideramos un riego de estos materiales en condiciones agronómicas, como sustrato de cultivo, observamos que en el compost de corteza de pino presenta el cadmio más biodisponible para la planta que el compost de restos de poda+biosólidos.

4.1.6. Selección de extractantes

Una vez evaluados en los materiales la biodisponibilidad de metales mediante el fraccionamiento de Tessier, así como también el comportamiento de desorción de Cd con el grado de dilución, se procedió a realizar el ensayo de selección de extractantes en combinación con una disolución nutritiva patrón como es la Hoagland (tabla 10). Considerando que en la utilización de sustratos de cultivo, se riega con disolución nutritiva y que en estudios de fitorremediación se emplean ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOA) (Wu et. al., 2003), es de interés evaluar con qué extractante se puede solubilizar más metal.

La selección de extractantes se realizó en el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino contaminados con $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de materia seca. Se realizaron extractos 1:5 con la muestra contaminada con Cd y distintos ácidos orgánicos en concentración $0,002 \text{ mol L}^{-1}$, como se describió en el apartado de material y métodos (3.4.4) Se incluyó la disolución nutritiva Hoagland (concentrada, sin micronutrientes, tabla 10) en los extractos para simular condiciones de fertirrigación. Los resultados se muestran en la tablas 32 y 33 para compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino respectivamente.

Tabla 32: Cd extraído (%) y pH de los diferentes extractos para el compost de restos de poda+biosólidos contaminados con 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca. (1:5 v/v).

Tratamiento	pH del extractante	pH extracto 1/5 (v/v)	% Cd extraído
DTPA-CaCl ₂	2,6	5,2	61,37±2,19a
H+ácido cítrico	3,1	5,3	1,65±0,02b
H+ZnCl ₂	4,9	5,6	1,49±0,02c
H+ácido tartárico	2,9	5,6	0,73±0,02c
H+ácido málico	2,9	5,7	0,71±0,02c
H+ácido gálico	3,7	5,8	0,65±0,12c
Hoagland (H)	5,0	5,8	0,47±0,00d
Agua destilada	6,0	6,4	0,25±0,04e

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$).

CE: conductividad eléctrica

Tabla 33: Cd extraído (%) y pH de los diferentes extractos para el compost de corteza de pino contaminados con 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca (1:5 v/v).

Tratamiento	pH del extractante	pH extracto 1/5 (v/v)	% Cd extraído
DTPA-CaCl ₂	2,6	3,1	91,17±2,93a
H+ZnCl ₂	3,1	4,1	30,77±0,66b
H+ácido tartárico	4,9	3,5	24,07±0,31c
H+ácido cítrico	2,9	3,5	22,81±0,23d
H+ácido málico	2,9	3,5	21,37±0,41e
H+ácido gálico	3,7	3,9	17,69±0,21f
Hoagland (H)	5,0	4,0	14,86±0,47g
Agua destilada	6,0	4,1	5,60±0,41h

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$).

CE: conductividad eléctrica

Los resultados de la curva de desorción de cadmio determinada anteriormente (apartado 4.1.5) mostraron la mayor capacidad tampón que tiene el compost de restos de poda+biosólidos comparado con el compost de corteza de pino, estos resultados se comprueban en este ensayo. Se observa que el pH de las distintas soluciones extractantes, incluyendo la más ácida que es el DTPA-CaCl₂ (pH 2,6), aplicadas al compost de restos de poda+biosólidos no modifican sustancialmente el pH de los extractos y se obtienen valores de pH dentro de los rangos adecuados para el cultivo de plantas (pH 5,2 con DTPA-CaCl₂). Por el contrario el compost de corteza de pino, no mostró capacidad tampón, el pH de las soluciones extractantes es muy similar al pH de

los extractos. Para aumentar el pH y la capacidad tampón se suele aplicar un tratamiento de encalado, que provoca la disociación de los grupos COOH y OH, responsable de las cargas negativas de esa materia orgánica y así generar una mayor capacidad tampón (Stevenson, 1994).

El porcentaje más alto de extracción de cadmio fue con DTPA-CaCl₂ para ambos materiales. Para el resto de los tratamientos extractantes, en compost de restos de poda+biosólidos, el tratamiento H+ácido cítrico y H+ZnCl₂ alcanzaron los mayores porcentajes de extracción de cadmio. En el compost de corteza de pino, se obtuvo una mayor concentración de cadmio con H+ZnCl₂ seguido por el H+ácido tartárico y H+ácido cítrico. Probablemente el Zn compita con el Cd por los sitios específicos de adsorción (McLaughlin y Singh, 1999). Do Nascimento (2006) obtuvieron similares resultados cuando agregaron cadmio (50 mg kg⁻¹ m.s) a un suelo (pH 7), donde el DTPA (10 mmol kg⁻¹) fue el más eficiente en remover el cadmio y entre los ácidos orgánicos, el cítrico (10 mmol kg⁻¹) fue uno de los más efectivos en remover metales pesados (Cd, Pb, Zn, Cu, Ni).

Los resultados de este ensayo permitieron seleccionar H+ácido cítrico, H+ZnCl₂ y DTPA-CaCl₂ como soluciones extractantes.

Después de este ensayo, y junto con los resultados de la caracterización físico-química previa de los materiales, se planteó la necesidad de conocer el grado de lixiviación potencial que pueden presentar estos materiales con un suministro continuo de riego. Para ello, antes del ensayo con plantas en invernadero, se llevó a cabo un ensayo con columnas de lixiviación con condiciones controladas para evaluar y validar los resultados obtenidos del fraccionamiento químico de Tessier, curva de desorción de cadmio y selección de extractantes.

4.2. ENSAYO 1: COLUMNAS DE LIXIVIACIÓN DE Cd Y OTROS METALES PESADOS DE COMPOST DE RESTOS DE PODA+BIOSÓLIDOS Y COMPOST DE CORTEZA DE PINO

Este ensayo se realizó con compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino sometido a dos grados de contaminación 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca con el correspondiente testigo o control con 0 mg de Cd adicionado (fotografía 1). Las condiciones del ensayo se explican en el apartado 3.5. Los materiales fueron puestos en columnas y regados con las disoluciones de riego seleccionadas según los resultados obtenidos en el apartado 4.1.6. Las columnas fueron regadas 30 días con agua destilada, luego 5 días con Hoagland (disolución nutritiva, tabla 10, aplicada sin micronutrientes), 5 días con Hoagland+ácido cítrico, 5 días con Hoagland+ácido cítrico+ZnCl₂, y finalmente 5 días con DTPA-CaCl₂. Los riegos consecutivos fueron aplicados para asemejar las condiciones del ensayo con planta. Se debe tener en cuenta que las condiciones de humedad del material con este dispositivo son mayores que las condiciones de humedad en un cultivo, ya que se necesita tener un elevado nivel de humedad para obtener lixiviación.

El objetivo de este ensayo fue evaluar la lixiviación del cadmio y otros metales pesados desde el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino cuando son aplicadas con distintas disoluciones de riego.

4.2.1. pH y conductividad eléctrica de los lixiviados.

En la figura 10 se muestra la evolución del pH de los lixiviados para el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino durante el ensayo. En general el pH de los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos fue mayor que el compost de corteza de pino.

En el compost de restos de poda+biosólidos se observó una tendencia a subir el pH, durante el tratamiento de agua destilada, en cambio en el compost de corteza de pino la tendencia fue a mantener el pH constante. Esto puede ser atribuido a un mayor contenido de sales y/o componentes alcalinos en el compost de restos de poda+biosólidos que se van lavando. Los valores de pH de los extractos 1:5, en el ensayo de selección de extractantes, para compost de restos de poda+biosólidos (pH 6,4; tabla 32) y compost de corteza de pino (4,1; tabla 33) son similares a los valores de

pH obtenidos en los lixiviados de durante los primeros días. También se confirma que el compost de restos de poda+biosólidos tiene una mayor capacidad tampón, (observada en la curva de desorción de cadmio y en el ensayo de extractantes) ya después de todos los tratamientos de riego el pH de este material varía en alrededor 2 unidades de pH como máximo, a pesar de aplicar disoluciones de riego de elevada acidez, en cambio en el compost de corteza de pino varia en alrededor de 3 unidades de pH durante el transcurso de los tratamientos de riego.

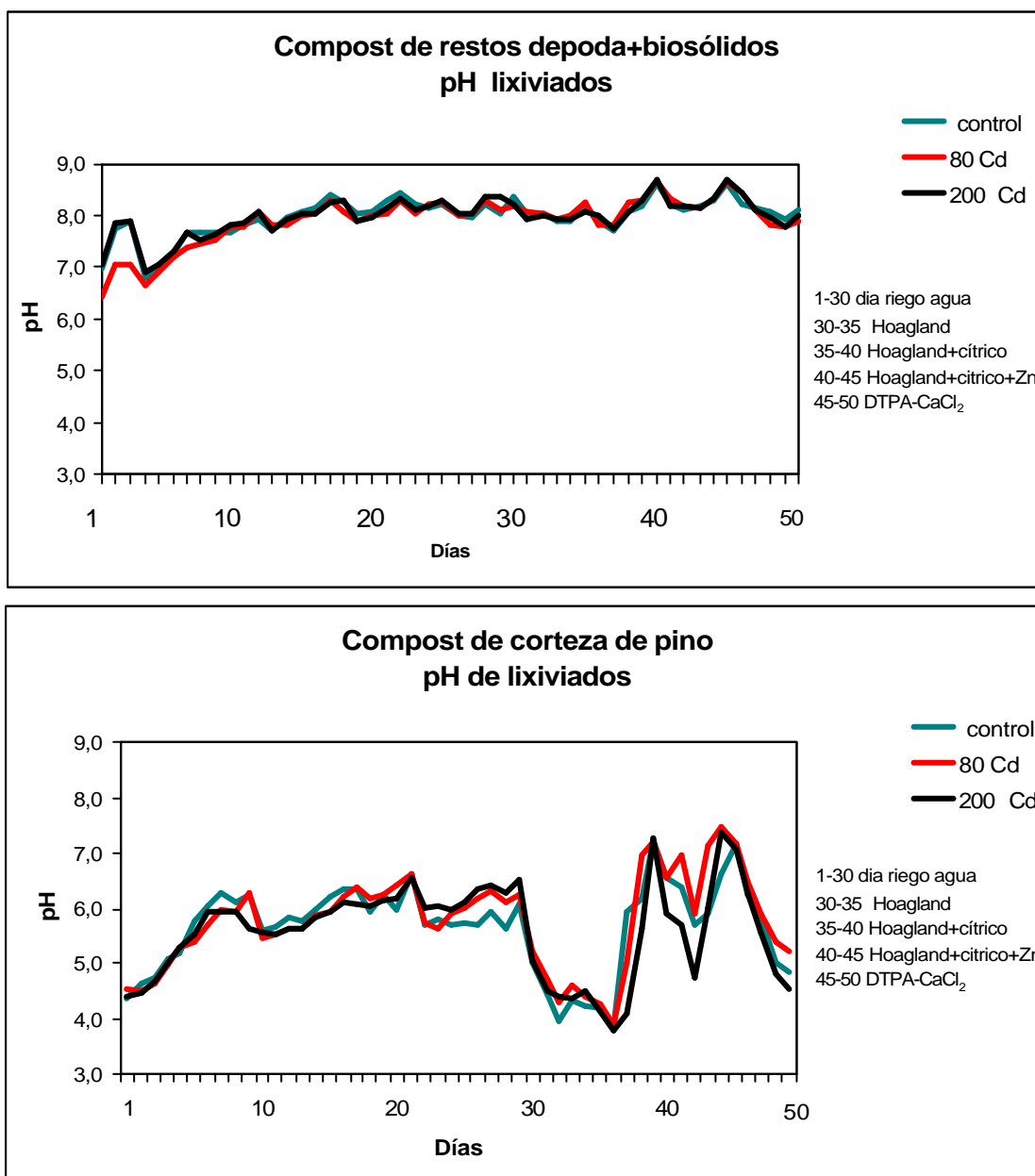


Figura 10: Evolución del pH de los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino en los lixiviados tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca, y regados con agua destilada (30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+cítrico (5 días); Hoagland+cítrico+zinc (5 días) y DTPA-CaCl₂: ácido dietilentriaminopentaacético-cloruro cálcico (5 días).

En ambos materiales se observa una mayor variabilidad en el pH cuando se aplicaron los tratamientos de riego Hoagland+cítrico, Hoagland+cítrico+zinc y DTPA-CaCl₂ para los tres tratamientos (control, 80 y 200 Cd), siendo mayor la variabilidad en el compost de corteza de pino. Estos aumentos y descensos de pH pueden ser debido a que la solución ácida de riego los primeros días no interacciona con el material y alrededor del tercer día, es probable que la disolución de riego disuelva componentes alcalinos.

La conductividad eléctrica (figura 11) en el compost de restos de poda+biosólidos fue mayor que en el compost de corteza de pino al inicio del ensayo, debido a un mayor contenido de cationes de este material (tabla 25). Posteriormente a la aplicación del tratamiento de riego con agua destilada, se produce un lavado y la conductividad disminuye notablemente en ambos materiales. Esta disminución es mucho más rápida en los lixiviados del compost de corteza de pino que en el compost de restos de poda+biosólidos. Se puede observar que en compost de restos de poda+biosólidos desde una conductividad eléctrica de alrededor de 7 dS m⁻¹ disminuye a 1 dS m⁻¹ en 7 días, en cambio, para el compost de corteza de pino desde una conductividad eléctrica de alrededor de 5 dS m⁻¹ disminuye a 1 dS m⁻¹ en 4 días. Para ambos materiales las conductividades eléctricas iniciales de los lixiviados son similares a las conductividades eléctricas de los extractos saturados de los materiales (tabla 25). Estos resultados indican que la salinidad presente en los materiales es debida a sales solubles y fácilmente lixiviables, lo que indica que estos materiales a pesar de tener elevadas conductividades eléctricas en el extracto saturado inicial, se puede proceder a un pretratamiento para la eliminación de sales.

Luego con la aplicación de Hoagland se produce un aumento de la conductividad eléctrica de ambos materiales, debido al aporte de cationes de este tratamiento y se mantiene sin variaciones importantes. La aplicación de Hoagland+cítrico y Hoagland+cítrico+Zn no aumenta la conductividad eléctrica de los lixiviados, pero sí el riego con DTPA-CaCl₂.

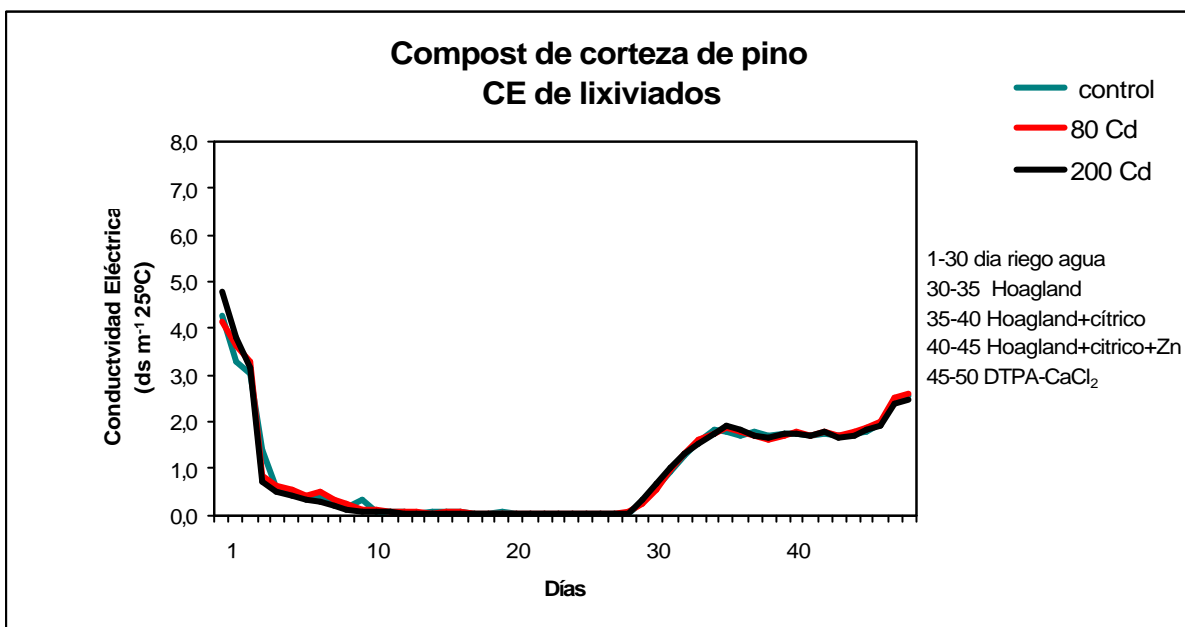
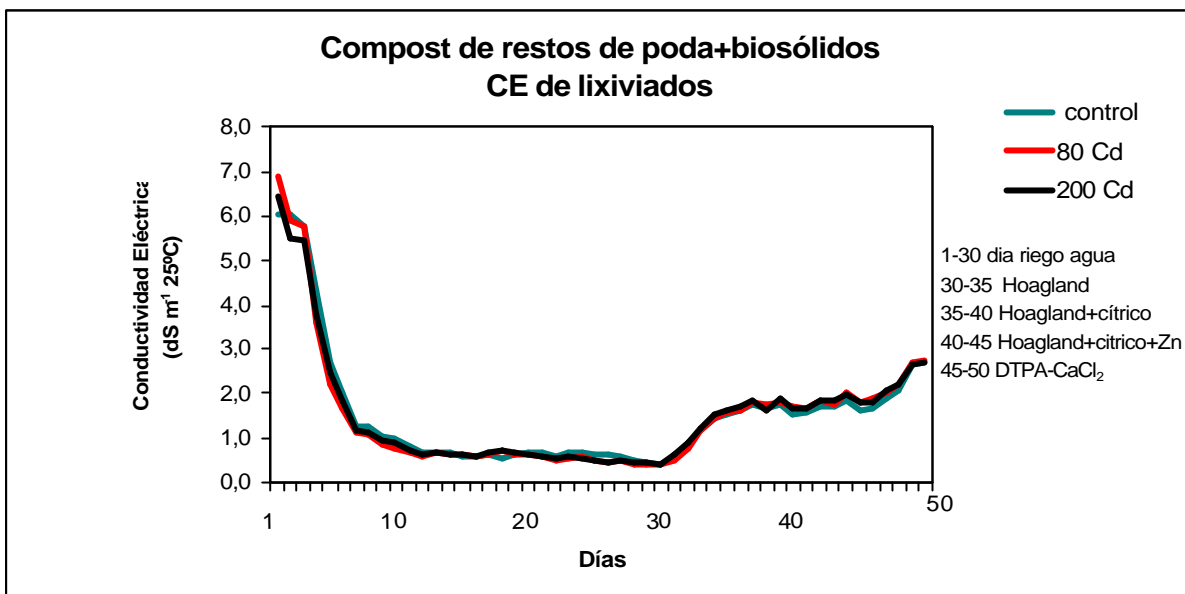


Figura 11: Evolución del conductividad eléctrica (CE) ($\text{dS m}^{-1} 25^\circ\text{C}$) de los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino en los lixiviados tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg^{-1} de materia seca, y regados con agua destilada (30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+citríco (5 días); Hoagland+ cítríco+zinc (5 días) y DTPA- CaCl_2 ; ácido dietilentriaminopentaacético-cloruro cálcico (5 días).

4.2.2. Macronutrientes lixiviados

El Ca, Mg, K y Na fueron analizados en los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino con 0 (control), 80 y 200 mg Cd kg^{-1} adicionado, para evaluar la pérdida por lixiviación y su posible relación con las

variaciones de pH. La concentración de cationes en los lixiviados no varió entre los tratamientos de cadmio aplicados.

Se observa en la figura 12, en el compost de restos de poda+biosólidos, altas concentraciones en los lixiviados de Ca y el K al inicio del ensayo y coinciden con las concentraciones obtenidas en el extracto saturado (tabla 25) y después de aproximadamente 15 días de aplicación continua del tratamiento con agua destilada las concentraciones disminuyeron notablemente. La lixiviación de Ca y K es muy rápida. Lo que indica que están en formas muy solubles, mientras que la concentración de Mg en los lixiviados es muy inferior a la concentración del extracto saturado (tabla 25). Esto puede indicar que este catión se encuentra adsorbido en el complejo de cambio en ambos materiales.

En el compost de resto de poda+biosólidos (figura 12), cuando se aplicó el tratamiento Hoagland la concentración de Ca y Mg aumentó en los lixiviados. Posteriormente las concentraciones de Ca, K y Mg en los lixiviados aumentaron durante el tratamiento de H+cítrico lo que coincide con el aumento de pH en los lixiviados (figura 10). El Mg en este material es el elemento que más variación experimenta con los tratamientos de riego H+cítrico y H+cítrico+Zn coincidiendo también con las variaciones de pH.

En la figura 13, para el compost de corteza de pino se observa una menor concentración Ca, Mg y K en los lixiviados después del tratamiento con agua destilada que en compost de restos de poda+biosólidos. Cuando se aplica el tratamiento Hoagland las concentraciones de Ca, Mg y K aumentaron en los lixiviados. También las concentraciones de Ca, y Mg en los lixiviados aumentaron durante el tratamiento de H+cítrico lo que coincide con el aumento de pH en los lixiviados (figura 10). El Ca en este material es el elemento que más variación experimenta con los tratamientos de riego H+cítrico y H+cítrico+Zn coincidiendo también con las variaciones de pH.

El Na en los lixiviados se determinó al inicio del ensayo, para el compost de restos de poda+biosólidos la concentración de Na fue de $173,8 \pm 47,1$ mg L⁻¹ y para el compost de corteza de pino $113,9 \pm 41,6$ mg L⁻¹, después de 15 días de tratamiento con agua destilada, el Na no se encontró en concentraciones importantes

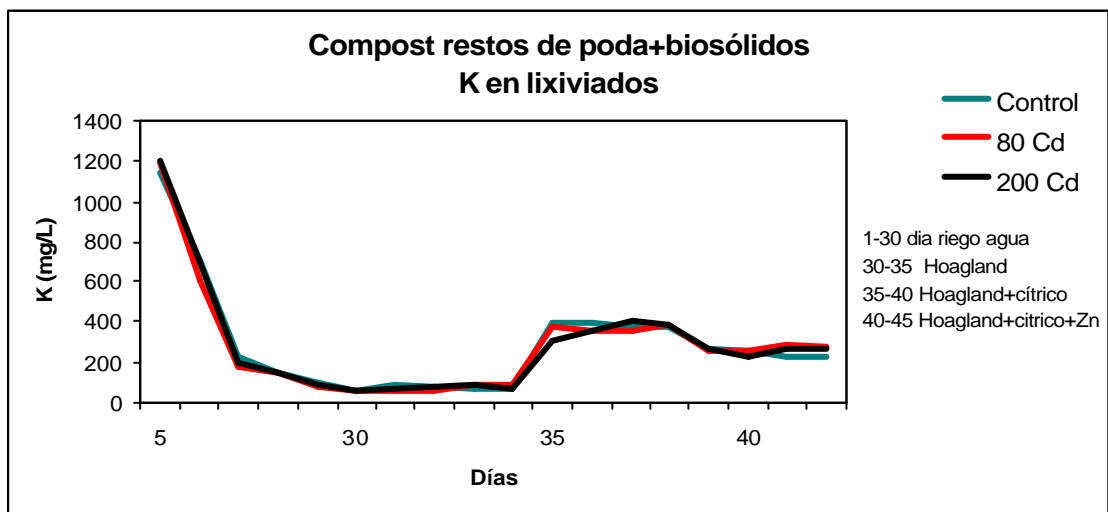
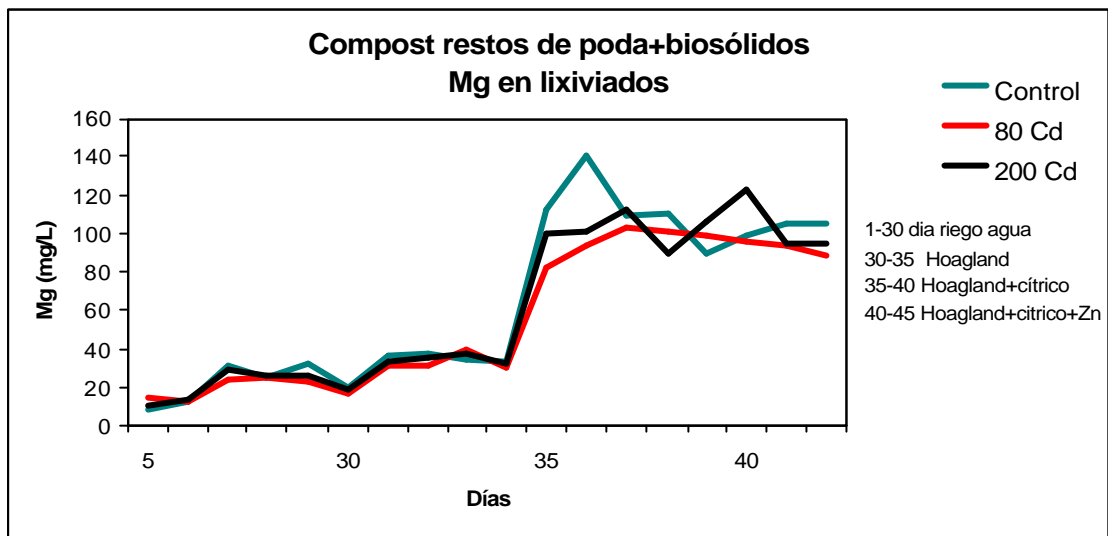
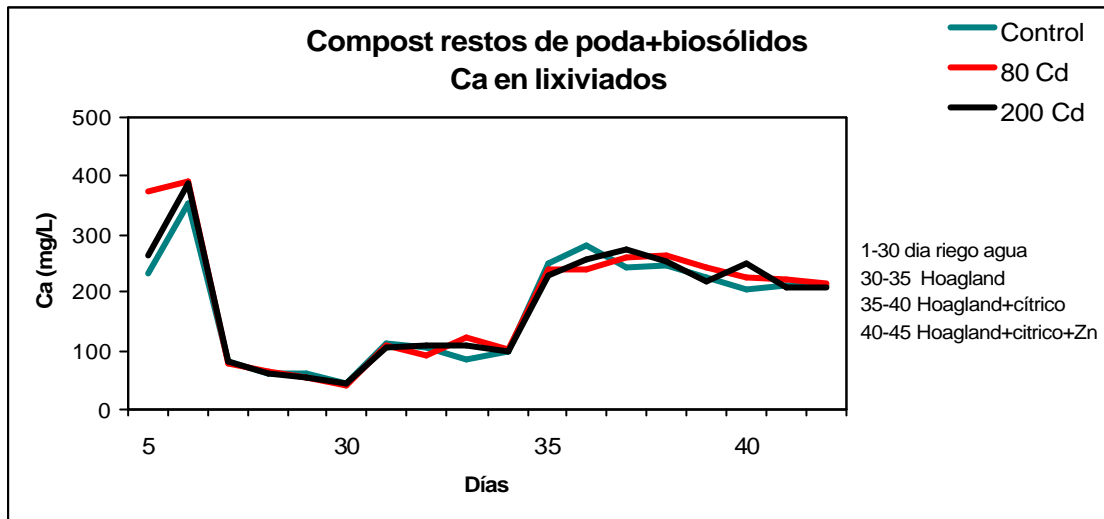


Figura 12: Evolución del Ca, Mg y K (mg L^{-1}) en los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg^{-1} de materia seca, y regados con agua destilada (30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+ (5 días); Hoagland+cítrico+zinc (5 días).

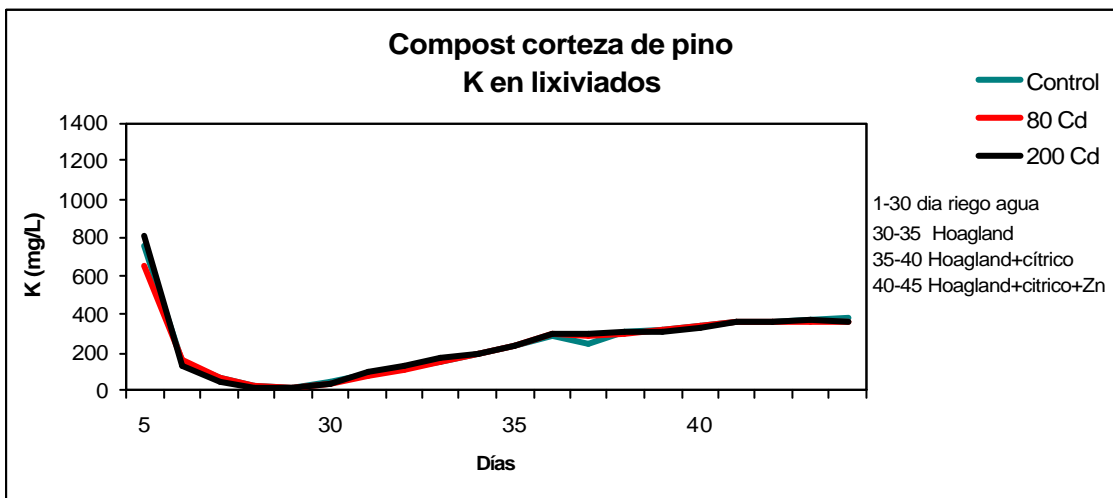
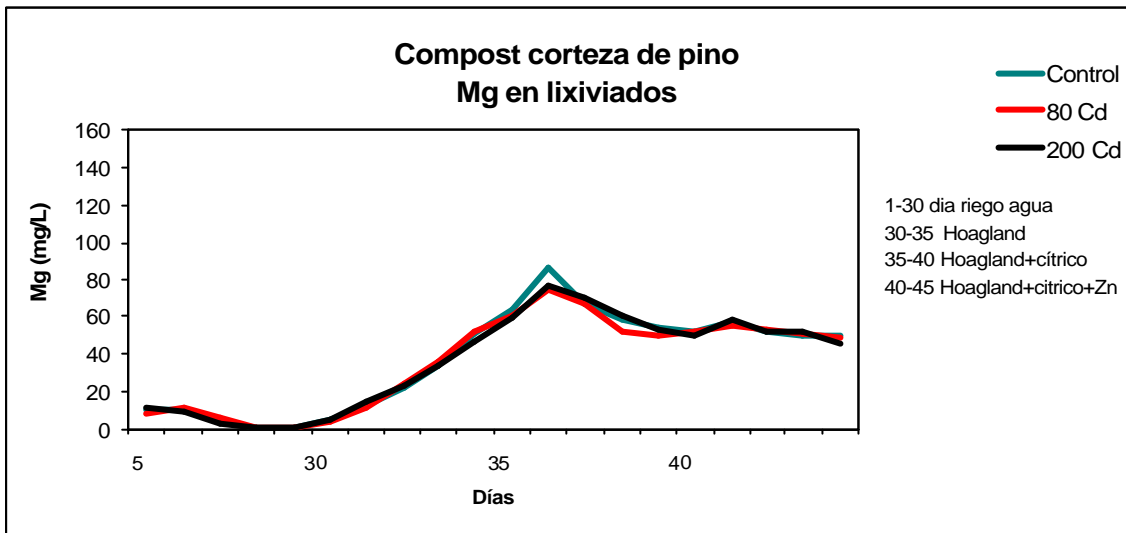
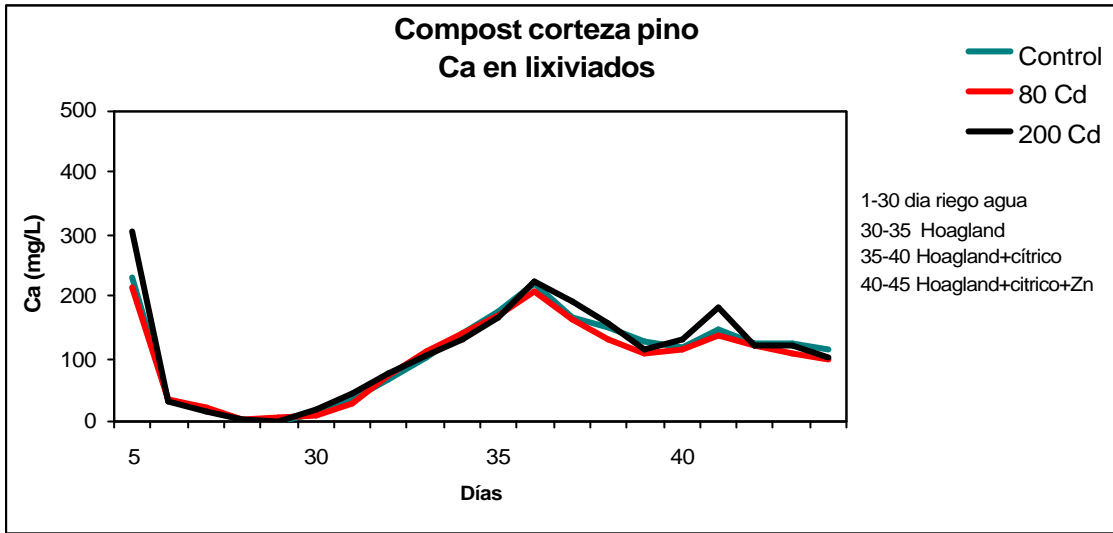


Figura 13: Evolución del Ca, Mg y K (mg L^{-1}) en los lixiviados del compost de corteza de pino tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg^{-1} de materia seca, y regados con agua destilada (30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+ cítrico (5 días); Hoagland+ácido cítrico+zinc (5 días).

4.2.3. Cadmio lixiviado.

En la tabla 34 se muestra la concentración media y acumulativa de cadmio lixiviado con los distintos tratamientos de riego aplicados al compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino con 0, 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca (fotografía 1). Para el tratamiento control (sin cadmio adicionado) la concentración de cadmio en lixiviados fue menor al límite de detección del aparato de medida.

En el compost de restos de poda+biosólidos el cadmio lixiviado apenas fue detectado y sin presentar variaciones en el transcurso del ensayo para ambos tratamientos (80 y 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca). Como se muestra en la figura 14, sólo con DTPA- CaCl₂ (en el doble eje de la gráfica) aumentó la concentración de cadmio en los lixiviados de este material.

En el compost de corteza de pino, se detectó cadmio en todos los tratamientos de riego (tabla 34) (figura 14).

Estos resultados indican que el compost de restos de poda+biosólidos presentó una mayor capacidad de retener el cadmio que el compost de corteza de pino como se mostró en la curvas de desorción y en ensayo de selección de extractantes (apartado 4.1.5 y 4.1.6 respectivamente).

Comparando estos resultados con los obtenidos en la curva de desorción de cadmio para el compost de restos de poda+biosólidos, se obtienen concentraciones de 0,30 mg L⁻¹, para el extracto 1:1 (figura 9), y en los lixiviados alrededor de 0,20 mg L⁻¹ (figura 14), debido a que el extracto en el ensayo de desorción se agita una hora, en cambio, el agua en las columnas se percola por el material y tiene menor tiempo de interacción. En el fraccionamiento químico de Tessier, se encontró alrededor de un 20% de cadmio asociado a la fracción soluble (figura 6b), equivalente a unos 4 mg L⁻¹ de Cd, pero para obtener la fracción soluble se emplea MgCl₂ (apartado 3.4.2) y no agua destilada como en las columnas. En el ensayo de extractantes (apartado 4.1.6) el ácido cítrico, había extraído 1,65% de cadmio (0,25 mg Cd L⁻¹), en cambio en las columnas después del riego con agua destilada y Hoagland, el ácido cítrico no mostró capacidad de extraer más cadmio, ya que la máxima concentración alrededor a 0,30 mg L⁻¹ había sido extraída con agua a los 3 días (figura 14). Estos resultados indican que la máxima concentración soluble de cadmio en agua para el compost de restos de poda+biosólidos contaminado con 200 mg Cd kg⁻¹ está en alrededor de 0,20-0,30 mg L⁻¹ de solución del

material, mientras que para el compost de corteza de pino está en alrededor de 1,60-2,0 mg L⁻¹.

Una serie de propiedades químicas del compost de restos de poda+biosólidos pueden explicar una mayor capacidad para retener el cadmio comparado con el compost de corteza de pino. Principalmente un mayor valor de pH y una mayor capacidad de intercambio catiónico (materia orgánica más humificada, mayor % de grupos carboxilos) contribuyeron a favorecer la adsorción de este metal. Sólo el DTPA-CaCl₂ fue capaz de extraer parcialmente el cadmio del compost de restos de poda+biosólidos en las columnas de lixiviación, extrayendo probablemente el cadmio que se encontraba asociado a la fracción de carbonatos y también a la fracción orgánica (Walter et. al., 2006).

Tabla 34: Concentración media y acumulativa de Cd en lixiviados (mg kg⁻¹ materia seca) después de aplicar diferentes tratamientos de riego consecutivos a columnas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

Tratamiento de riego	Tratamiento de cadmio mg kg ⁻¹ m.s.	Compost de restos de poda+biosólidos	Compost de corteza de pino	Cd lixiviado (mg kg ⁻¹ materia seca)	
Agua destilada (pH 6,0)	80	0,16± 0,2	2,87± 0,4		
	200	0,41± 0,0	8,01± 0,5		
Hoagland (solución nutritiva) (pH 5,0)	80	0,16± 0,2	3,40± 0,4		
	200	0,41± 0,0	9,23± 1,1		
Hoagland + ácido cítrico (pH 2,5)	80	0,16± 0,2	5,24± 0,6		
	200	0,41± 0,0	14,27± 1,9		
Hoagland + ácido cítrico + Zn (pH 2,4)	80	0,16± 0,2	6,02± 0,4		
	200	0,41± 0,0	17,84± 2,3		
DPTA- CaCl ₂ (pH 2,6)	80	31,30± 1,1	40,98± 1,4		
	200	71,21± 1,5	101,18± 7,0		

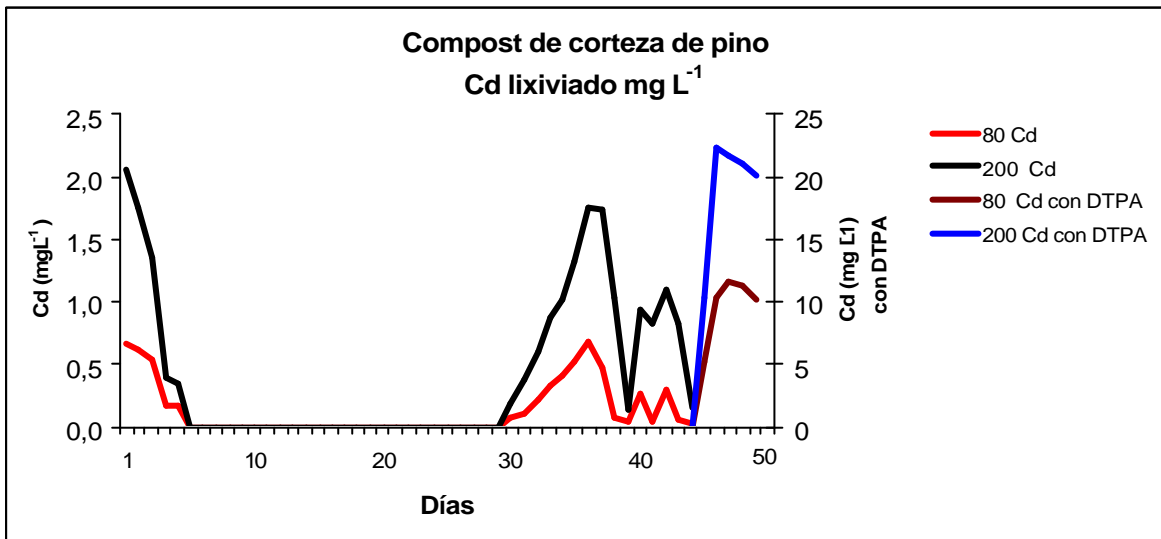
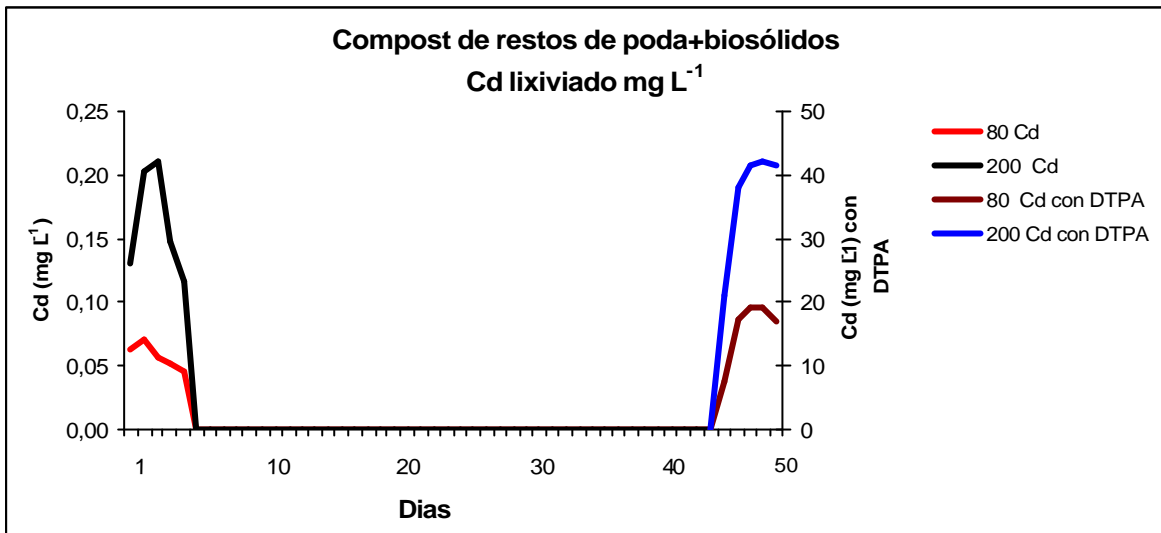


Figura 14. Evolución del Cd (mg L⁻¹) en los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos tratados con 0 (control) 80 y 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca, y regados con agua destilada (30 días); Hoagland (5 días); Hoagland+ácido cítrico (5 días); Hoagland+ácido cítrico+zinc (5 días) y DTPA-CaCl₂: ácido dietilentriaminopentaacético-cloruro cálcico (5 días).

Al final del ensayo se determinó el cadmio residual (por digestión en agua regia apartado 3.3.8) en el compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino después de aplicados todos los tratamientos de riego. Los resultados se muestran en la tabla 35. El total de cadmio lixiviado de compost de restos de poda+biosólidos alcanzó un 39,1% para el tratamiento de 80 y 35,6% para el tratamiento de 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca. En estudios similares, Song y Greenway (2003), en columnas con compost (restos vegetales y fibra de madera con 5 µg l⁻¹ de Cd) regadas con EDTA

(0,05 mol l⁻¹ y pH 5,5) después de 12 horas encontraron un 41% de Cd en lixiviados. En el compost de corteza de pino el Cd total lixiviado fue de 51,1% para el tratamiento de 80 y 50,6% para el tratamiento de 200 mg Cd kg⁻¹ materia seca.

Tabla 35: Cadmio adicionado, lixiviado y residual en mg kg⁻¹ materia seca en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino al final del ensayo de columnas.

	Cd adicionado mg kg ⁻¹	Cd total lixiviado mg kg ⁻¹	% lixiviación	Cd residual columnas mg kg ⁻¹	Suma mg kg ⁻¹	% R
Compost de restos de poda+biosólidos	80	31,3±1,1	39,1	40,6±2,1	71,9	89,9
	200	71,2±1,5	35,6	114,9±5,5	186,1	93,0
Compost de corteza de pino	80	40,9±1,4	51,1	22,4±7,3	63,3	79,3
	200	101,2±7,0	50,6	98,7±2,7	199,9	99,9

%R: porcentaje de recuperación

4.2.4. Otros metales pesados lixiviados.

Se determinó la concentración de otros metales pesados en los lixiviados del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino (sin adición de cadmio). En la tabla 36, se presenta la concentración acumulativa de Cu, Zn, Mn y Fe en lixiviados (µg kg⁻¹) después de aplicar diferentes tratamientos de riego para el compost de restos de poda+biosólidos.

En los lixiviados de compost de restos de poda+biosólidos, en general, se encontraron bajos porcentajes de lixiviación de metales respecto al total, atribuibles principalmente al riego con DPTA- CaCl₂.

Tabla 36: Concentración media acumulativa de Cu, Mn, Fe y Zn en lixiviados ($\mu\text{g kg}^{-1}$ materia seca) después de aplicar diferentes tratamientos de riego en compost de restos de poda+biosólidos (sin adición de cadmio)

Tratamiento de riego		Concentración en lixiviados	Concentración total	% Lixiviación
		$\mu\text{g kg}^{-1}$ materia seca	mg kg^{-1} materia seca	
Agua destilada	Cu	31,8 \pm 5,0	124,2	0,3
	Zn	74,1 \pm 18,8	205,7	0,4
	Mn	120,3 \pm 27,7	183,3	0,7
	Fe	41,0 \pm 13,6	8733,3	0,05
Hoagland (solución nutritiva)	Cu	<LD		
	Zn	<LD		
	Mn	<LD		
	Fe	<LD		
Hoagland + ácido cítrico	Cu	<LD		
	Zn	<LD		
	Mn	<LD		
	Fe	<LD		
Hoagland + ácido cítrico + Zn	Cu	<LD		
	Zn	<LD		
	Mn	<LD		
	Fe	<LD		
DPTA- CaCl_2	Cu	447,7 \pm 104,8	1242,0	3,6
	Zn	14860,1 \pm 539,2	(1838,0)	(12,1)
	Mn	1541,5 \pm 198,9	2057,0	7,5
	Fe	2226,4 \pm 273,8	8733,3	1,7

<LD: menor al límite de detección

En el caso del zinc, se obtuvo una alta concentración en los lixiviados al final del ensayo (valores entre paréntesis), pero no es debido sólo al contenido de zinc del material, sino al tratamiento de riego Hoagland+cítrico+Zn. Sin embargo no se detectó zinc en los lixiviados cuando se aplicó este tratamiento de riego, lo que indica que este material presentó una elevada retención para este metal.

En la tabla 37 se presenta la concentración acumulativa de Cu, Zn, Mn y Fe en lixiviados ($\mu\text{g kg}^{-1}$) después de aplicar diferentes tratamientos de riego para el compost de corteza de pino. Se detectaron altas concentraciones de Mn en todos los lixiviados, debido a que este metal se encontró asociado en una alta concentración a la fracción soluble de este material (tabla 30). Para el zinc, es la misma consideración señalada anteriormente, sin embargo el zinc se detectó en los lixiviados de compost de corteza de

pino cuando se aplicó cloruro de zinc como tratamiento de riego, lo que indica que este material no presenta capacidad para retener este metal.

Tabla 37: Concentración media acumulativa de Cu, Mn, Fe y Zn en lixiviados ($\mu\text{g kg}^{-1}$ materia seca) después de aplicar diferentes tratamientos de riego en compost de corteza de pino (sin adición de cadmio)

Tratamiento de riego		Concentración	Concentración	% Lixiviación
		en lixiviados	total	
		$\mu\text{g kg}^{-1}$ materia seca	mg kg^{-1} materia seca	
Agua destilada	Cu	49,1 \pm 12,3	7,1	0,7
	Zn	438,5 \pm 63,8	26,4	1,7
	Mn	5152,2 \pm 1124,2	93,3	5,5
	Fe	<LD		
Hoagland (solución nutritiva)	Cu	<LD		
	Zn	100,1 \pm 35,4	26,4	0,4
	Mn	664,9 \pm 131,4	93,3	0,7
	Fe	<LD		
Hoagland + ácido cítrico	Cu	<LD		
	Zn	<LD		
	Mn	861,7 \pm 205,6	93,3	0,9
	Fe	<LD		
Hoagland + ácido cítrico + Zn	Cu	<LD		
	Zn	337,1 \pm 42,7	26,4	(1,3)
	Mn	266,4 \pm 75,4	93,3	0,3
	Fe	<LD		
DPTA- CaCl_2	Cu	42,4 \pm 10,9	7,1	0,6
	Zn	4093,7 \pm 1112,5	26,4	(15,5)
	Mn	3698,4 \pm 999,3	93,3	3,9
	Fe	19294,7 \pm 3843,3	2664,8	0,7

<LD: menor al límite de detección.

4.2.5. Relación de absorbancia 465 nm/ 665 nm en los lixiviados.

La diferencia de color en los lixiviados, fue notable entre el compost de corteza restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino (fotografía 13). El color en el compost de restos de poda+biosólidos fue mucho más oscuro que en el compost de corteza de pino. Esta diferencia es atribuible a un mayor pH del compost de restos de poda+biosólidos considerando que a mayor pH se genera la disociación de grupos carboxílicos y fenólicos y consecuentemente más grupos cromóforos (Stevenson, 1994).

Se midieron directamente las absorbancias de los lixiviados a 465 nm y 665 nm del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino del tratamiento control (sin adición de cadmio), cuando fueron regados con agua destilada.



Fotografía 14: Color de lixiviados al inicio del ensayo, en compost de restos de poda+biosólidos (derecha) y compost de corteza de pino (izquierda).

Durante los primeros 6 días se midieron las absorbancias en los lixiviados de tratamiento de riego con agua destilada. La evolución de cociente entre absorbancia 465 nm/ absorbancia 665 nm se muestra en la figura 15. Se observa un mayor cociente en el compost de restos de poda+biosólidos comparado con el compost de corteza de pino. Si se asume que este cociente es similar a la relación E_4/E_6 , se puede decir que el compost de restos de poda+biosólidos tiene un mayor grado de humificación que el compost de restos de poda+biosólidos, que se corresponden con un mayor extracto húmico total y con la mayor relación EHT/COT comparada con las obtenidas para el compost de corteza de pino (tabla 26). Un mayor grado de humificación de la materia orgánica puede contribuir significativamente a reducir la solubilidad y movilidad de los metales pesados (Halim et. al., 2003).

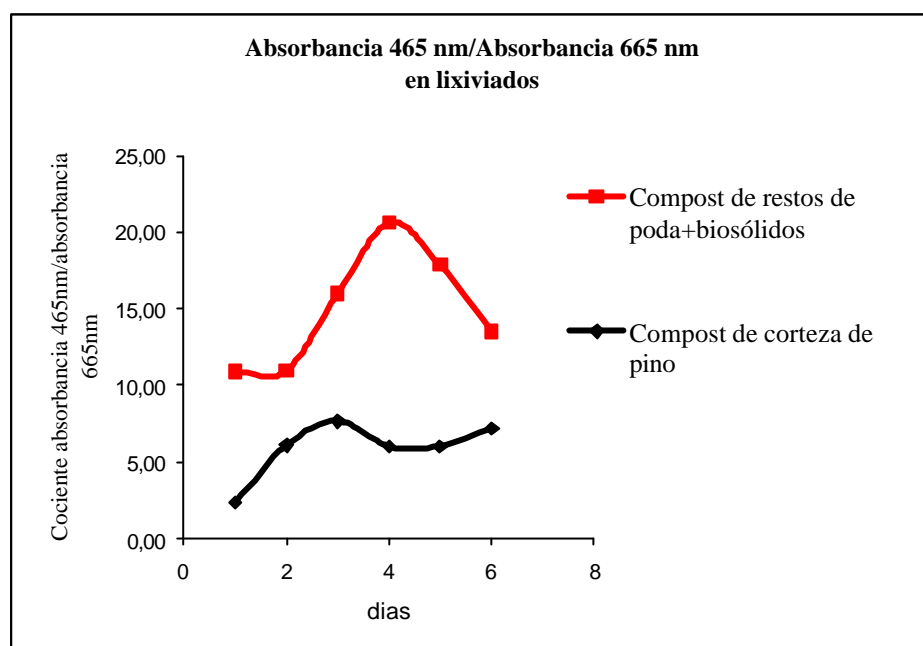


Figura 15: Evolución del cociente de entre absorbancia 465 nm/ absorbancia 665 nm de los lixiviados de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino cuando fueron regados con agua destilada.

Un mayor cociente de absorbancias podría indicar una mayor concentración de grupos alifáticos que es el caso del compost de restos de poda+biosólidos y una menor cociente, indica un alto grado de condensación de grupos aromáticos y fenólicos que es el caso del compost de corteza de pino, esto se corresponde con los resultados obtenidos en la resonancia magnética nuclear (CPMAS RMN) (tabla 31). La disminución del cociente en los lixiviados se debe al lavado de los componentes orgánico solubles a medida que se va aplicando el tratamiento de riego.

La concentración de carbono hidrosoluble fue mucho mayor en el compost de restos de poda+biosólidos ($203,5 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca) que en el compost de corteza de pino ($30,5 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca) (tabla 26). Sin embargo el carbono hidrosoluble del compost de restos de poda+biosólidos no mostró la capacidad de formar complejos solubles con los metales (no se detectaron altas concentraciones de metales, en general, en los lixiviados, tabla 36) comparado con la materia orgánica de la fase sólida del material, a la que se atribuye principalmente la capacidad de complejación de metales, según los resultados obtenidos en el fraccionamiento de químico de Tessier (tabla 29)

4.2.6. Resonancia magnética nuclear de ^{13}C en estado sólido (CPMAS RMN) del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino al final del ensayo de lixiviación de metales.

Para evaluar las posibles modificaciones estructurales de la materia orgánica, producido por el tratamiento de riego aplicado a las columnas, en condiciones de elevada humedad y temperatura controlada, se realizó una comparativa mediante RMN de ^{13}C en estado sólido (CPMAS RMN), a la materia orgánica del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, antes y después 50 días de aplicación de los tratamiento de riego en columnas. Se debe considerar que estas condiciones pueden acelerar los procesos que intervienen en las modificaciones de la materia orgánica, comparado con condiciones de campo.

Los resultados se muestran en la tabla 38 y 39 para compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, respectivamente.

Se observa en general una disminución de la mayoría de los grupos funcionales en ambos materiales, excepto en el grupo o-alquilo. Stacey et. al., 2001, siguieron la evolución de la materia orgánica de lodos y compost encontrando que después de incubarlos 100 días (30-35°C) con humedad a capacidad de contenedor, los grupos O-alquilo y grupos carbonilos experimentaron un descenso. Sin embargo, la disminución de los grupos funcionales en este caso, puede ser debida al efecto lavado, que ha producido la aplicación de las diferentes disoluciones de riego aplicadas a las columnas. La disminución más destacable es la de los grupos aromáticos en el compost de corteza de pino. Mientras que el aumento del grupo O-alquilo puede ser debida a la adición de ácido cítrico. Este ácido tiene una estructura policarboxilada (tabla 6) que podría haber contribuido a aumentar la intensidad de los grupos O-alquilo.

Existen hipótesis que sugieren que los metales se quedan retenidos en las sustancias húmicas, en la biomasa microbiana y componentes no cristalinos de los lodos, con mayor probabilidad que se liberen por descomposición de la materia orgánica (Merrington et. al., 2003).

Tabla 38. Variación del área relativa (% de área total) de los grupos funcionales de la materia orgánica de compost de restos de poda+biosólidos, determinado por CPMAS ¹³C RMN, antes y después del ensayo de columnas de lixiviación.

Desplazamiento químico (d)	Tipo de C enlazado	Compost de restos de poda+biosólidos	
		Inicial	Final
			%
0 < d = 45	Alifático	21,5	21,4
45 < d = 60	N-alquilo	7,8	6,3
60 < d = 93	O-alquilo	37,9	42,8
93 < d = 110	Di-O-alquilo	11,5	10,3
110 < d = 140	Aromático	6,7	5,9
140 < d = 160	Fenólico	7,1	5,7
160 < d = 190	Carboxilo	6,7	6,9
190 < d = 220	Cetonas/amidas	0,7	0,7

Tabla 39. Variación del área relativa (% de área total) de los grupos funcionales de la materia orgánica de corteza de pino, determinado por CPMAS ¹³C RMN,, antes y después del ensayo de columnas de lixiviación.

Desplazamiento químico (d)	Tipo de C enlazado	Compost de corteza de pino	
		Inicial	Final
			%
0 < d = 45	Alifático	7,2	4,9
45 < d = 60	N-alquilo	4,5	5,1
60 < d = 93	O-alquilo	48,3	53,4
93 < d = 110	Di-O-alquilo	12,9	14,9
110 < d = 140	Aromático	14,2	9,3
140 < d = 160	Fenólico	9,5	8,8
160 < d = 190	Carboxilo	2,1	2,1
190 < d = 220	Cetonas/amidas	1,3	1,5

4.3. ENSAYO 2: SELECCIÓN DE PLANTAS TOLERANTES A CRECER EN SUSTRATOS CONTAMINADOS CON CADMIO.

Una vez caracterizadas las propiedades físico-químicas del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, con especial énfasis en la movilidad de metales pesados, la siguiente etapa fue seleccionar plantas tolerantes a crecer el medio contaminado con metales pesados como factor limitante. Para ello este ensayo se ha realizado utilizando el compost de corteza de pino como sustrato de cultivo. Por un lado se trata de un sustrato comercial, es decir que es utilizado comúnmente por productores de plantas y por otro, como se ha visto en el ensayo anterior de movilidad de metales, cuando se adicionaron a este material $200 \text{ mg Cd kg}^{-1}$, el cadmio se presentó en mayor parte asociado a la fracción soluble (47,4%, figura 7b) y por lo tanto más biodisponible para la planta. En resumen y como indican los resultados anteriores (tablas 22 a la 27), es un material con propiedades físicas adecuadas, bajo valor de pH y una conductividad eléctrica elevada, pero causada por sales fácilmente lixiviables. En condiciones reales de cultivo, se habría planteado un encalado con carbonato cálcico o dolomita, pero en este caso el objetivo es que el metal esté más biodisponible para la planta por lo cual se decidió mantener el pH natural del sustrato.

El sustrato se contaminó con $100 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de materia seca. La duración del ensayo fue de 70 días, tiempo suficiente para observar en la planta síntomas importantes y permitir que ocurrieran la absorción y traslocación de Cd. Otros trabajos han mantenido ensayos con plantas de absorción de cadmio por 42 días (Shuman et. al., 2002) o 90 días (Ghosh y Shing et. al., 2005). El ensayo se realizó en los meses de verano, época en que la planta requiere más riego facilitando la movilidad de metales pesados.

4.3.1. Parámetros de crecimiento

En las tablas 40, 41 y 42 se presentan los resultados correspondientes al peso seco de la parte aérea, la raíz y la altura de las plantas tras 70 días de cultivo. No hubo diferencias significativas en el peso seco de la parte aérea, raíz ni altura entre las plantas correspondientes al tratamiento control (sin cadmio) y las plantas cultivadas en sustrato contaminado con cadmio. Sólo en *Phillyrea angustifolia* el peso seco de la raíz fue mayor para el tratamiento con Cd.

Tabla 40 : Peso seco (g) de parte aérea después de 70 días de crecimiento en sustrato con cadmio y control.

Cd en sustrato (mg kg ⁻¹)	<i>Atriplex halimus</i>	<i>Phillyrea angustifolia</i>	<i>Rhamnus alaternus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
0	19,5±2,9	13,5±2,5	4,7±0,9	15,3±3,4
100	16,9±3,9	14,8±2,9	4,9±1,6	13,3±3,5

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas de acuerdo al test Duncan $p=0,05$

Tabla 41: Peso seco (g) de la raíz después de 70 días de crecimiento en sustrato con cadmio y control.

Cd en sustrato (mg kg ⁻¹)	<i>Atriplex halimus</i>	<i>Phillyrea angustifolia</i>	<i>Rhamnus alaternus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
0	5,4±1,0	2,9±1,1a	0,5±0,3	2,0±0,8
100	4,4±1,0	4,2±1,1b	0,8±0,3	2,5±0,7

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas de acuerdo al test Duncan $p=0,05$

Tabla 42: Altura (cm) de parte aérea después de 70 días de crecimiento en sustrato con cadmio y control.

Cd en sustrato (mg kg ⁻¹)	<i>Atriplex halimus</i>	<i>Phillyrea angustifolia</i>	<i>Rhamnus alaternus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
0	74,5±16,4	53,6±10,9	29,4±7,5	33,7±6,4
100	68,3±20,3	54,2±10,0	23,0±4,2	31,8±6,6

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas de acuerdo al test Duncan $p=0,05$

La relación peso seco parte aérea/raíz de las plantas disminuyó cuando fueron puestas en el sustrato con Cd excepto para el *Atriplex halimus* (tabla 43). Esto indica que esta especie tiene un mayor potencial de exploración del sustrato en las condiciones de ensayo.

El *Rhamnus alaternus* presenta una relación peso seco parte aérea/raíz mayor, lo que indica una menor capacidad de exploración de las raíces en el sustrato.

El mantenimiento de la relación peso seco parte aérea /raíz, en el *Atriplex halimus*, puede indicar una mayor resistencia de este especie al factor de stress por metales pesados. Mientras que la reducción de la relación peso seco parte aérea/raíz en las demás especies puede indicar que la presencia de Cd como factor limitante provoca una reducción del órgano en contacto directo con el metal. Sin embargo al no existir diferencias importantes de la relación peso seco parte aérea /raíz de las plantas cultivadas en el sustrato control y sustrato contaminado con Cd, este parámetro sólo sirve como indicador potencial del crecimiento de las plantas.

Tabla 4B: Relación peso seco parte aérea/raíz después de 70 días de crecimiento en sustrato con cadmio y control.

Cd en sustrato (mg kg ⁻¹)	<i>Atriplex halimus</i>	<i>Phillyrea angustifolia</i>	<i>Rhamnus alaternus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
0	3,6	4,6	9,4	7,7
100	3,8	3,5	6,1	5,3

Las plantas de *Atriplex halimus* cultivadas en el sustrato control y sustrato con cadmio presentaron un mayor incremento de peso seco de la parte aérea al final del ensayo (figura 16), seguidas por el *Rosmarinus officinalis*. Las plantas de *Phillyrea angustifolia* y *Rhamnus alaternus* son las que menos aumentaron el peso seco de la parte aérea al final del ensayo. Si consideramos uno de los criterios que es la rápida generación de biomasa, las especies *Atriplex halimus* y *Rosmarinus officinalis* son las que mejor se adaptan al sustrato contaminado con Cd y alcanzando pesos secos significativamente mayores que *Phillyrea angustifolia* y *Rhmanus alaternus*.

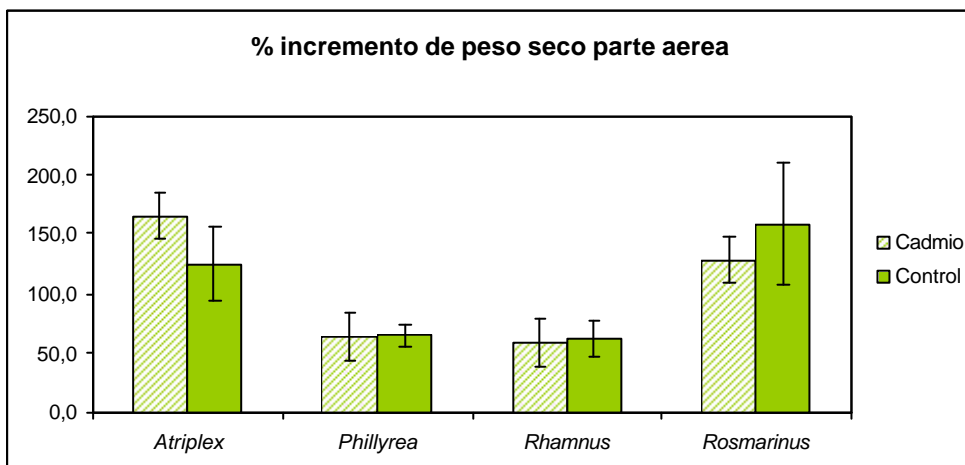


Figura 16: Incremento de peso parte aérea (%) de plantas cultivadas en sustrato con 0 mg Cd (control) y con 100 mg Cd Kg⁻¹ m.s., al final del ensayo. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

4.3.2. Concentración y contenido de cadmio en plantas.

La concentración de cadmio en hoja, tallo y raíz de *Atriplex halimus*, *Phillyrea angustifolia*, *Rhamnus alaternus* y *Rosmarinus officinalis* se muestra en la tabla 44. Se observa en general, una mayor concentración de cadmio en *Atriplex halimus* respecto al resto de las plantas.

En todas las plantas a excepción del *Atriplex halimus*, el cadmio se encontró en mayor concentración en la raíz. A los 35 días, el *Atriplex halimus* es la única especie en que la concentración de Cd es similar en hoja y raíz, en cambio en el *Rhamnus alaternus* no se detecta cadmio en hoja ni en tallo. A los 70 días de ensayo la tendencia se mantiene, la planta de *Atriplex halimus* trasloca el Cd a la parte aérea mientras que la *Phillyrea angustifolia* y *Rhamnus alaternus* lo mantiene principalmente en la raíz. La planta de *Rosmarinus officinalis* parece mostrar un comportamiento intermedio entre *Atriplex halimus* y *Phillyrea angustifolia* y *Rhamnus alaternus*. Es decir una mayor concentración de Cd en raíz que en parte aérea, pero mayor traslocación de Cd a la parte aérea que *Phillyrea angustifolia* y *Rhamnus alaternus*.

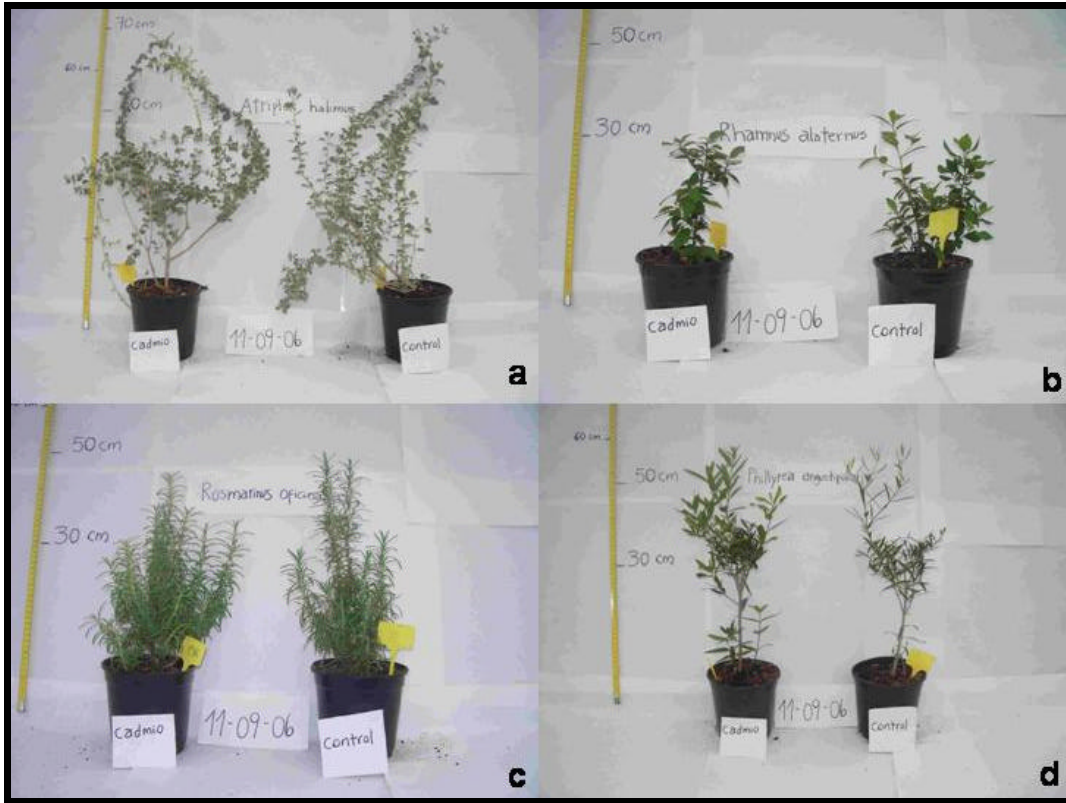
Para evaluar la movilización del cadmio en parte aérea, se realizó una diferenciación entre tallo y hoja. Esta diferenciación es interesante, porque aunque los arbustos sean perennifolios, en ciertas condiciones pierden hojas que producirían una vuelta del Cd al sistema suelo-sustrato, y si se acumula el Cd en el tallo, se mantendría más inmovilizado.

Tabla 44: Concentración total de cadmio (mg kg⁻¹ materia seca) en hoja, tallo y raíz de las plantas cultivadas en sustrato con 100 mg kg⁻¹ materia seca a 35 y 70 días de ensayo.

Cd en el sustrato mg kg ⁻¹			<i>Atriplex halimus</i>	<i>Phillyrea angustifolia</i>	<i>Rhamnus alaternus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
	tiempo	órgano	mg Cd kg ⁻¹ materia seca			
100	35 días	hoja	31,3±5,5	1,4±0,2	<L.D.	5,1±1,4a
		tallo	25,5±0,6	6,3±2,4	<L.D.	9,9±2,7
		raíz	35,8±8,9	60,4±19,1	114,2±23,6	38,0±13,7
100	70 días	hoja	34,7±9,5	>L.D.	4,4±1,8	7,5±1,5
		tallo	35,2±12,5	11,3±3,7	7,5±2,7	12,9±1,3
		raíz	20,6±1,4	107,8±25,9	190,6±64,8	60,2±17,2

Ghosh y Singh (2005) en un ensayo similar, donde adicionaron 100 mg Cd kg⁻¹ m.s al suelo (pH 8,2), después de 90 días, obtuvieron concentraciones en hoja de 43,2 mg Cd kg⁻¹ en materia seca en *Brassica juncea*. Lehmann y Rebele (2004), para *Calamagrostis epigejos* en suelo (pH 7,5) en el cual adicionaron también 100 mg Cd kg⁻¹ m.s encontraron una concentración en hoja de 5,1 mg Cd kg⁻¹ m.s.

Las plantas cultivadas en compost de corteza de pino con $100 \text{ mg de Cd kg}^{-1}$, no presentaron síntomas de toxicidad durante el transcurso del ensayo (fotografía 15), a pesar de una alta concentración soluble de cadmio en este sustrato.



Fotografía 15: Aspecto de a) *Atriplex halimus*, b) *Rhamnus alaternus* c) *Rosmarinus officinalis* d) *Phillyrea angustifolia* cultivados en sustrato control (sin adición de cadmio) y en sustrato contaminado con $100 \text{ mg Cd kg}^{-1} \text{ m.s.}$

El contenido total de cadmio en μg por planta se muestra en la figura 17. El *Atriplex halimus* alcanzó, al final del ensayo, un contenido medio total de $669,9 \pm 119,2 \mu\text{g Cd}$ por planta, con un 87,2% del Cd en la parte aérea, *Rosmarinus officinalis* $303,6 \pm 24,3 \mu\text{g Cd}$ por planta con un 43 % del Cd en la parte aérea, *Rhamnus alaternus* $199,1 \pm 34,5 \mu\text{g Cd}$ por planta con un 15% del cadmio en la parte aérea y *Phillyrea angustifolia* $379,0 \pm 56,1 \mu\text{g Cd}$ por planta con un 38% del cadmio en la parte aérea (principalmente en el tallo).

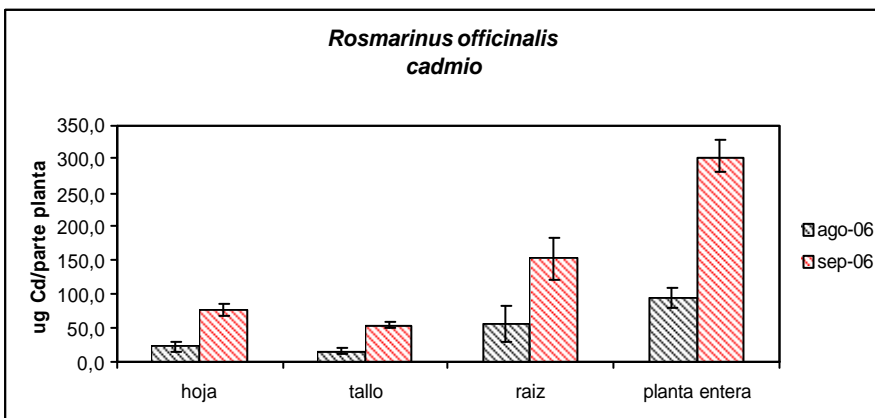
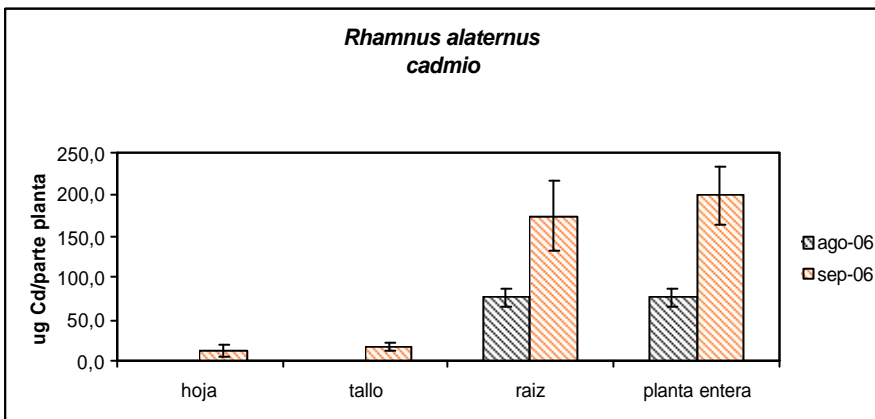
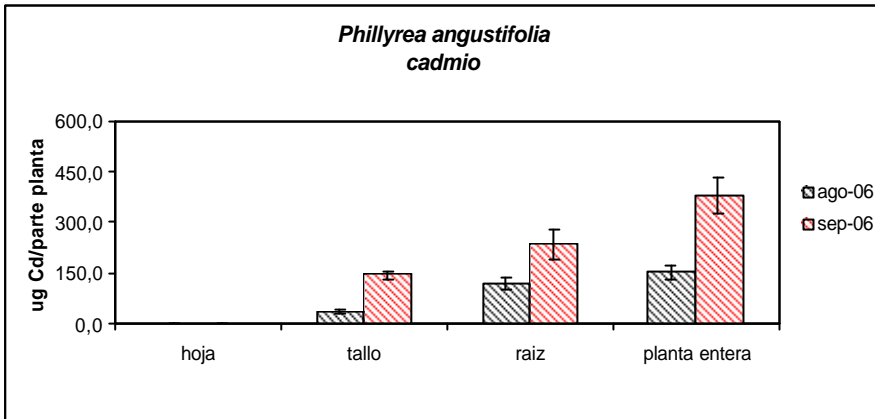
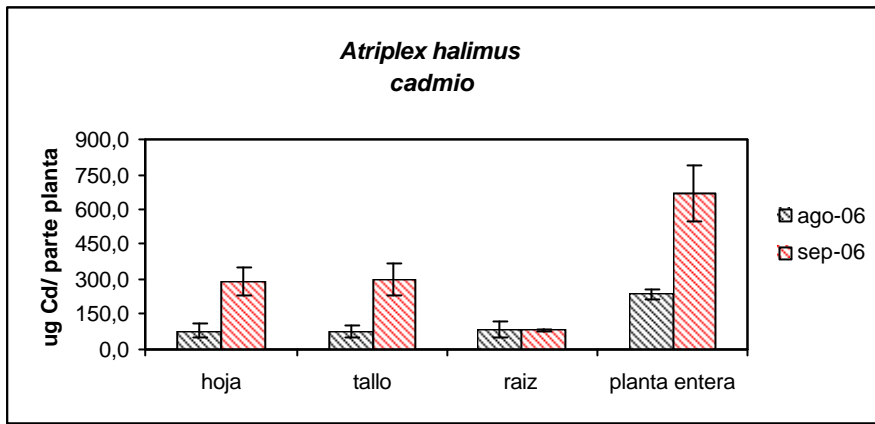


Figura17: Contenido de cadmio (μg) en plantas cultivadas en sustrato con $100 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ de materia seca. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

4.3.3. Factor de bioacumulación e índice de transporte de cadmio a parte aérea.

El factor de bioacumulación ($\text{Cd en hoja mg kg}^{-1}/\text{Cd añadido al sustrato en mg kg}^{-1}$) e índice de transporte de cadmio a la parte aérea ($\text{Cd en parte aérea mg kg}^{-1}/\text{Cd en raíz en mg kg}^{-1}$) se muestra en la figura 18. El *Atriplex halimus* alcanzó el mayor factor de bioacumulación (0,3) e índice de transporte a la parte aérea (1,7). Ghosh y Singh (2005) obtuvieron un factor de bioacumulación entre 0,3-0,6 en *Brassica campestris*, *Brassica juncea*, *Datura innoxia*, *Ipomoea carnea* y *Phragmites karka* cuando fueron cultivadas en suelo con $100 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ materia seca.

Respecto al índice de transporte a parte aérea los valores menores a 1, indican que la concentración de cadmio en la raíz es mayor e que la planta presenta estrategias de exclusión del metal, que es el caso *Phillyrea angustifolia*, *Rhamnus alaternus* y *Rosmarinus officinalis*, en cambio el *Atriplex halimus*, alcanza un alto índice de transporte a la parte aérea, siendo esta especie recomendable para su potencial uso en fitoextracción, como también recomendaron los trabajos, en hidroponía con esta planta, de Lutts et. al., (2004)

Los resultados obtenidos de este ensayo permiten seleccionar a las siguientes plantas:

1. *Atriplex halimus* : esta planta mostró una mayor concentración de cadmio, el mayor factor de bioacumulación e índice de transporte a la parte aérea (especialmente en hoja) comparado con las otras plantas (figura 18). Además mostró también un mayor porcentaje de incremento de peso durante el ensayo (figura 16). Es la especie que presenta mejores cualidades para ser utilizada en estudios de fitoextracción.

2. *Rosmarinus officinalis*: esta planta no presentó diferencias significativas en el factor de bioacumulación de cadmio con respecto a *Rhamnus alaternus* y *Phillyrea angustifolia*, (figura 18) pero el índice de transporte a la parte aérea fue mayor que en *Rhamnus alaternus* (figura 18). El *Rosmarinus officinalis* es una planta con menor capacidad fitoextractora que el *Atriplex halimus*, lo que se confirma con un menor factor de bioacumulación y especialmente su menor índice de transporte a la parte aérea, pero es una especie de crecimiento rápido y generación de biomasa abundante y con una mayor capacidad fitoestabilizadora del cadmio en la raíz.

Finalmente, la *Phillyrea angustifolia* y el *Rhamnus alaternus* mostraron bajo incremento de biomasa, por lo cual no fueron seleccionadas. No obstante y dado que el

factor limitante ensayado, no mostraron síntomas de toxicidad, el lento crecimiento puede deberse al pH ácido del sustrato, aunque los antecedentes señalan que pueden adaptarse a todo tipo de terrenos (apartado 3.6)

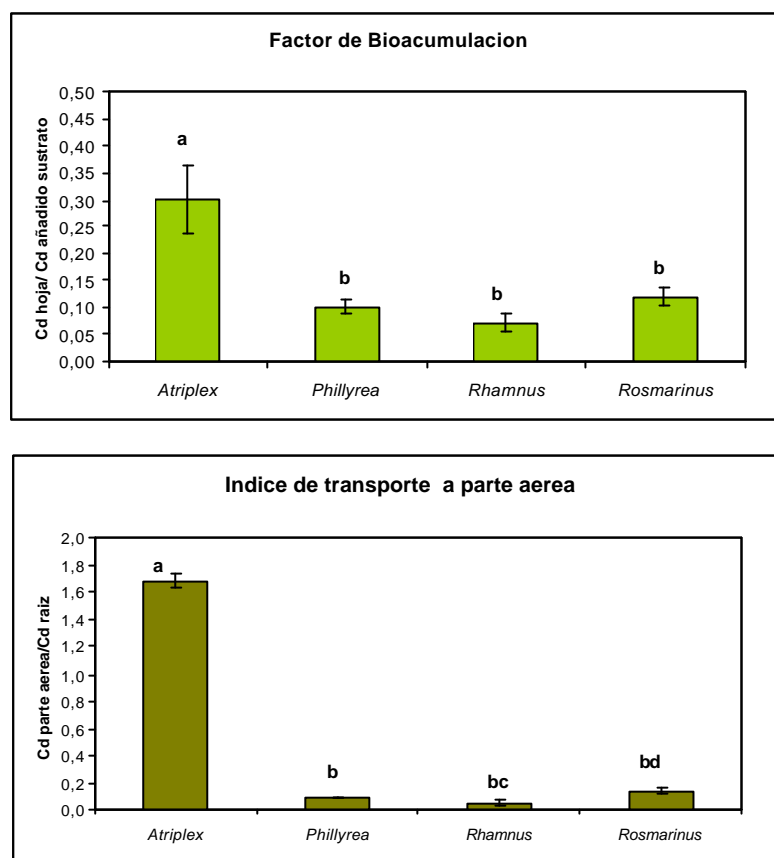


Figura 18: Factor de bioacumulación e índice de transporte la parte aérea de cadmio para las diferentes especies vegetales cultivadas en sustrato contaminado con $100 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ materia seca. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$). Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

4.4. ENSAYO 3: EVALUACIÓN DE COMPOST DE RESTOS DE PODA+BIOSÓLIDOS COMO SUSTRATO DE CULTIVO DE *ROSMARINUS OFFICINALIS*.

En el ensayo 2 de selección de especies tolerantes a crecer en medio contaminado con cadmio (apartado 4.3), se ha elegido las especies arbustivas *Atriplex halimus* y el *Rosmarinus officinalis* que fueron la que mejor se adaptaron a crecer en estas condiciones. El *Atriplex halimus* mostró más bien una capacidad fitoextractora de metal mientras que el *Rosmarinus officinalis* una capacidad fitoestabilizadora. Esta capacidad fitoestabilizadora de metales también se observó en trabajos de Cala et. al., (2006) que indicaron que este arbusto no aumentó significativamente el contenido total de metales pesados en hoja, respecto al control, cuando fue cultivado en una mezcla de suelo y lodos de depuradora. El *Rosmarinus officinalis*, es un arbusto que presenta un interés como planta ornamental, comestible (especia) y medicinal (aceites esenciales) y debido a estas cualidades se seleccionó para este ensayo.

Para evaluar la viabilidad del uso de compost de restos de poda+biosólidos como sustrato de cultivo en contenedor se comparan resultados con el compost de corteza de pino, ya que en el ensayo de selección de especies, el *Rosmarinus officinalis* creció adecuadamente en este sustrato.

El compost de restos de poda+biosólidos, resultó ser una partida con una alta conductividad eléctrica que causó un efecto tóxico en las plantas en ensayos de transplante realizados previamente (fotografía 6 y 7), por ello fue necesario realizar un tratamiento previo de lavado, como alternativa a la mezcla con otros materiales, ya que el objetivo era evaluar este material como sustrato sin adicionar otros componentes. No había riesgo importante de lixiviación de metales pesados, como se había comprobado con los resultados del ensayo de columnas (tabla 36). Respecto a las características físicas e hidrofísicas, del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino, fueron similares a las que indican las tablas 22, 23 y 24, y se ajustan en general a los valores de referencia, excepto una menor porosidad total (75%) que presentó el compost de restos de poda+biosólidos.

Se determinaron las características físico-químicas del compost de restos de poda+biosólidos antes y después de lavar. Los resultados se muestran en la tabla 45. Antes de lavar se observa una elevada concentración de sales, y consecuentemente una

alta conductividad eléctrica. Uno de los principales problemas para el uso como sustratos de cultivo de los biosólidos, como se mencionó en el apartado de la introducción, es el exceso de nutrientes. El lavado fue necesario para permitir el desarrollo de la planta, sin embargo, es discutible desde el punto de vista del gasto de agua y las sales fácilmente lavables que lixivian al suelo, por lo que quizás el lavado podría haber sido menor, para ahorrar agua y nutrientes, hasta que la conductividad eléctrica de los lixivados fuera alrededor de 3 dS m⁻¹ y no 2 dS m⁻¹ como se realizó (apartado 3.7.1).

Después del lavado, en el extracto saturado del sustrato, la conductividad eléctrica y la concentración de nutrientes disminuyeron notablemente. Las propiedades físico-químicas después del lavado resultaron estar dentro de los valores de referencia dados para sustratos de cultivo (tabla 25).

Tabla 45: pH, conductividad eléctrica (dS m⁻¹ 25°C) y nutrientes en extracto saturado (mg L⁻¹) del compost de restos de poda+biosólidos antes y después del lavado.

	Compost de restos de poda+biosólidos	
	Antes de lavar	Después de lavar
	Extracto saturado	
pH	6,4	6,9
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹ 25°C)	18,03	1,09
Ca (mg L ⁻¹)	1744,3	106,5
Mg (mg L ⁻¹)	507,6	30,9
Na (mg L ⁻¹)	418,0	23,7
K (mg L ⁻¹)	2880,3	179,5
NO ₃ (mg L ⁻¹)	1398,2	8,0
Cl (mg L ⁻¹)	1608,2	15,9
P (mg L ⁻¹)	21,4	17,9

Respecto a la concentración de metales pesados (tabla 46), se observa que los valores son similares antes y después de lavar. Este resultado fue importante, ya que no se lixiviaron metales pesados por el procedimiento de lavado, lo que se corresponde con los resultados obtenidos en las columnas de lixiviación en condiciones de laboratorio.

Los niveles de metales pesados estudiados en el compost de restos de poda+biosólidos no sobrepasaron los niveles permitidos por la legislación para el uso agrícola de estos materiales (tabla 3).

Tabla 46: Concentración total de metales pesados (mg kg^{-1} materia seca) del compost de restos de poda+biosólidos antes y después del lavado.

	Compost de restos de poda+biosólidos	
	Antes de lavar	Después de lavar
Cu (mg kg^{-1})	160,0	131,6
Zn (mg kg^{-1})	394,6	312,8
Mn (mg kg^{-1})	226,7	192,2
Fe (mg kg^{-1})	8994,6	8513,2
Pb (mg kg^{-1})	80,7	80,9
Cd (mg kg^{-1})	1,8	1,9

4.4.1. Propiedades físico-químicas de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

En la tabla 47 se muestra el pH, conductividad eléctrica y concentración de principales nutrientes en el extracto 1:5 compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino. El compost de corteza de pino presenta un bajo valor de pH. Se observa una diferencia de tres puntos de pH entre los materiales. Sin embargo no se realizó un procedimiento de encalado del compost de corteza de pino, debido a que su utilización como sustrato de cultivo con estas características de pH no presentó problemas para las plantas, en el ensayo realizado previamente de selección de especies (apartado 4.3).

Tabla 47: pH, conductividad eléctrica (dS m^{-1} 25°C) y nutrientes (mg L^{-1}) en extracto 1:5 de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino

Extracto 1:5	Compost de restos de poda+biosólidos	Compost de corteza de pino
pH	7,1	4,0
Conductividad eléctrica (dS m^{-1} 25°C)	0,30	0,40
Ca (mg L^{-1})	22,9	13,3
Mg (mg L^{-1})	6,4	5,7
Na (mg L^{-1})	16,0	7,7
K (mg L^{-1})	58,3	52,8
NO_3 (mg L^{-1})	7,3	14,9
P (mg L^{-1})	7,4	11,7
Cl (mg L^{-1})	4,0	7,8

Respecto a la concentración de nutrientes, el compost de restos de poda+biosólidos presentó un mayor concentración de Ca y Na mientras que el P, NO₃ y Cl son mayores en el compost de corteza de pino. El Mg y K están en concentraciones similares en ambos materiales.

Respecto a la concentración total de metales pesados en compost de restos de poda+biosólidos fue bastante mayor que la concentración en el compost de corteza de pino (tabla 48), sin embargo no sobrepasan los límites permitidos por la legislación (tabla 3). En cuanto la biodisponibilidad de estos metales, según el fraccionamiento químico de Tessier (tabla 30), el compost de corteza de pino, presenta principalmente una mayor biodisponibilidad de Mn.

Tabla 48: Concentración total de metales pesados (mg kg⁻¹ materia seca) en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

	Compost de restos de poda+biosólidos	Compost de corteza de pino
Cu (mg kg ⁻¹)	131,6	3,2
Zn (mg kg ⁻¹)	312,8	19,6
Mn (mg kg ⁻¹)	192,2	74,2
Fe (mg kg ⁻¹)	8513,2	3085,9
Pb (mg kg ⁻¹)	80,9	<LD
Cd (mg kg ⁻¹)	1,9	0,45

4.4.2. Solución nutriente del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino extraída con sondas de succión Rhizon

Mediante el empleo de sondas de succión Rhizon, se extrajo quincenalmente una muestra de la solución nutritiva del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino fertirrigados con Hoagland diluida al 50%. Esta metodología permitió hacer un seguimiento continuo *in situ* del pH, conductividad eléctrica y elementos solubles del medio de cultivo.

El pH de la solución nutritiva del compost de restos de poda+biosólidos fue mayor que en compost de corteza de pino (figura 19). El pH del compost de corteza de pino se mantuvo por debajo del pH de la disolución nutritiva Hoagland y presentó una mayor variabilidad que en el compost de restos de poda+biosólidos. Lopez-Cuadrado

(2006) también observó una mayor variabilidad de pH en sustratos a base de corteza de pino, comparada con otros materiales usados como sustratos de cultivo. No obstante el pH experimentó un ligero incremento en el compost de corteza de pino, desde el inicio al final del ensayo, como consecuencia del aporte continuado de disolución nutritiva Hoagland de pH 5,5.

Respecto a la conductividad eléctrica (figura 20) fue mayor en compost de restos de poda+biosólidos y evolucionaron de forma similar en ambos materiales. Se observa un aumento de la conductividad eléctrica a partir de junio, que es debido al aumento de la evapotranspiración por una mayor temperatura en ese período (tabla 15).

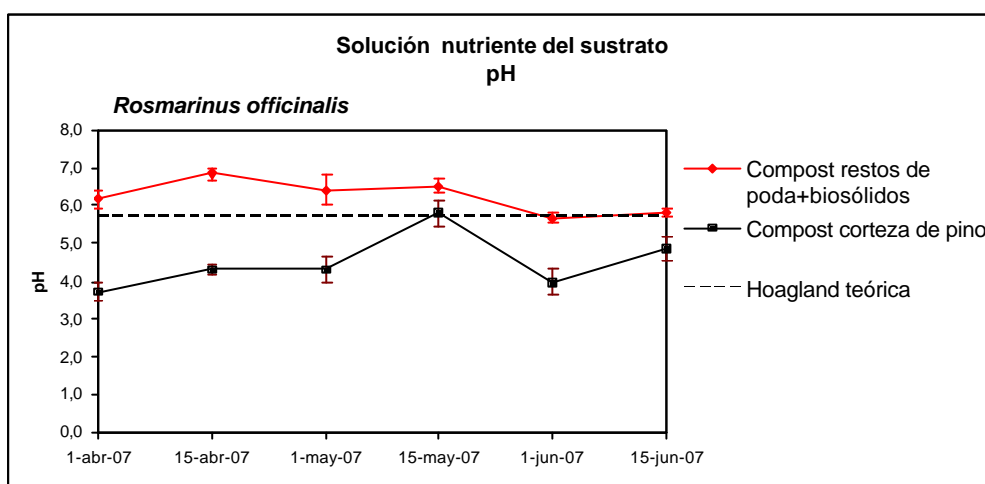


Figura 19: Evolución del pH de la solución nutritiva del compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino fertirrigados con Hoagland diluida al 50% y extraída con sondas de succión Rhizon. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

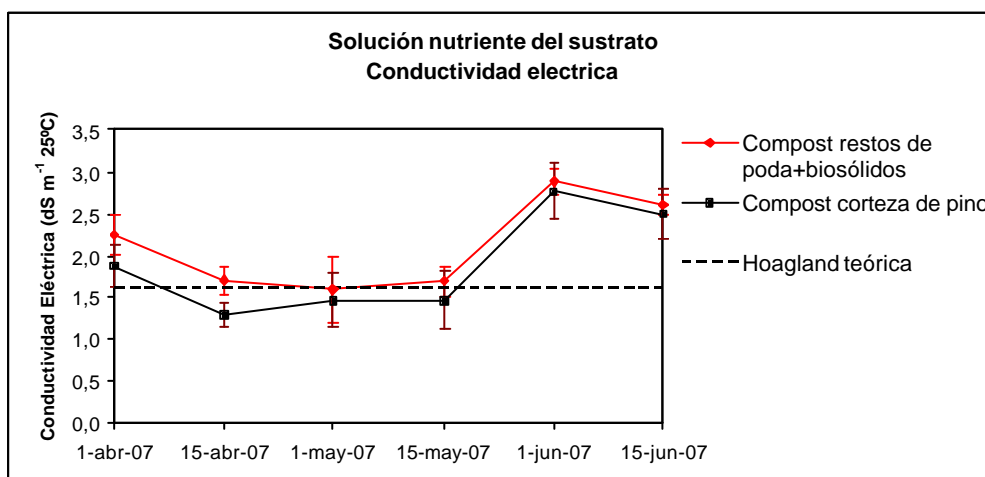


Figura 20: Evolución de la conductividad eléctrica ($\text{dS m}^{-1} 25^{\circ}\text{C}$) de la solución nutritiva de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino fertirrigados con Hoagland diluida al 50% y extraída con sondas de succión Rhizon. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

La concentración de Ca, Mg y K en la solución nutriente del sustrato se muestra en la figura 21. Se observa una mayor concentración de Ca en el compost de restos de poda+biosólidos, debido a que este material tiene una mayor concentración inicial (tabla 47). Mientras que el K fue mayor en el compost de corteza de pino.

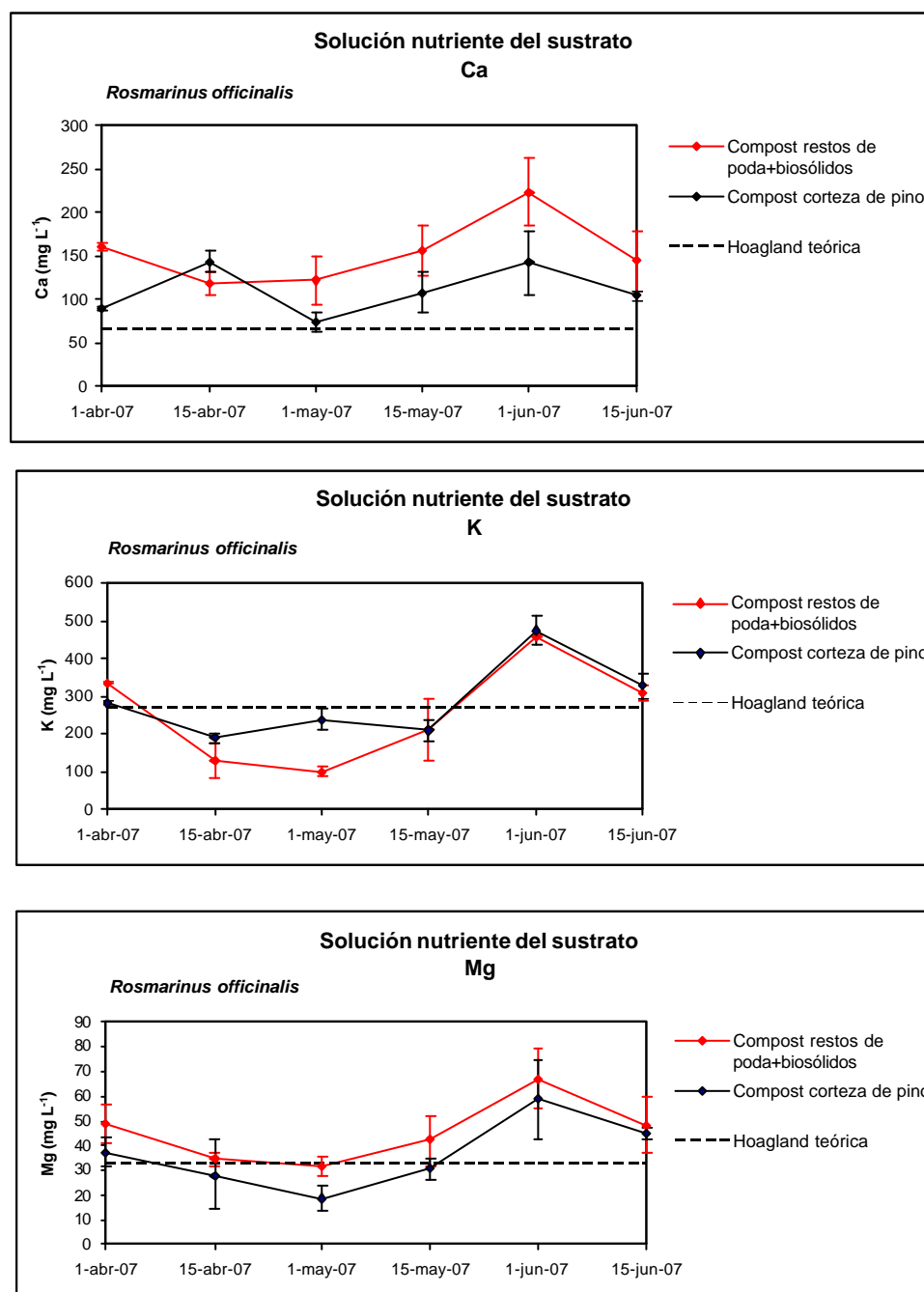


Figura 21: Evolución de la concentración de Ca, K y Mg (mg L⁻¹) en la solución nutriente de compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino fertirrigados Hoagland diluida al 50% y extraída con sondas de succión Rhizon. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

Un nivel de cationes por debajo de lo teórico (en la gráfica en líneas discontinuas), indica que en el sustrato se presentaron procesos de adsorción del catión en el complejo de cambio. Este es el caso de K y el Mg al inicio del tratamiento de fertirrigación. El aumento de la concentración de elementos en junio es debido al aumento de la evapotranspiración debido a una mayor temperatura registrada en este período (tabla 15).

Hay que destacar que el volumen de riego fue diferente para ambos sustratos, siendo mayor para el compost de restos de poda+biosólidos como se indica en el apartado de material y métodos (tabla 14). Esto produce que al ser diferente el riego, la fertilización también es diferente. Este se debe a que se ha priorizado el factor físico, regando de acuerdo con el nivel de humedad indicada por tensiómetros, ya que el sustrato de corteza de pino necesitaba mucho menos riego. Este procedimiento ha supuesto un menor aporte de nutrientes al sustrato de corteza de pino. Estas diferencias pueden producir también diferencias en el crecimiento de la planta.

4.4.3. Parámetros de crecimiento y desarrollo de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

El peso fresco y la altura de plantas crecidas en el compost de restos de poda+biosólidos fueron significativamente mayores para el compost de restos de poda+biosólidos comparado con compost de corteza de pino a partir de mayo (tabla 49 y fotografía 16). El peso seco de hoja, tallo y raíz del *Rosmarinus officinalis* cultivado en ambos materiales se muestra en la tabla 50. Se observa que el peso seco de hoja y tallo de plantas cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos fue significativamente mayor. En raíz, debido a una mayor variabilidad no se encontraron diferencias. La variabilidad es debida a que las raíces son difíciles de separar del medio de cultivo, por lo tanto existen mayores errores experimentales en la obtención la muestra. La relación entre el peso seco de la parte aérea y el peso seco de la raíz fue mayor para el compost de restos de poda+biosólidos, excepto en junio. En figura 22 se observa que a partir de mayo, el peso seco de la hoja es significativamente mayor para el tratamiento de compost de restos de poda+biosólidos.

Tabla 49: Peso fresco (g) parte aérea de *Rosmarinus officinalis* en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino

	Sustrato	Peso fresco (g)	Altura (cm)
nov 06	(alveolo)	12,0±2,4	35,0±6,0
mar 07	Compost restos de poda+biosólidos	73,8±20,3	50,5±7,7b
	Compost corteza de pino	50,4±25,1	58,0±9,9a
abr 07	Compost restos de poda+biosólidos	81,9±14,7	60,1±11,3
	Compost corteza de pino	56,4±32,4	58,7±10,5
may 07	Compost restos de poda+biosólidos	153,9±28,6a	68,2±12,5a
	Compost corteza de pino	89,8±6,5b	62,4±11,0b
jun 07	Compost restos de poda+biosólidos	165,9±11,1a	75,9±14,3a
	Compost corteza de pino	134,0±14,3b	62,4±10,2b

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)



Fotografía 16: Aspecto de *Rosmarinus officinalis* al final del ensayo cultivado en compost de restos de poda+biosólidos (derecha) y compost de corteza de pino (izquierda) y aspecto de las raíces de la planta cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos (superior der.) y en compost de corteza de pino (inferior der.)

Tabla 50: Peso seco hoja, tallo y raíz (g) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

Sustrato	hoja	tallo	raíz	Relación peso seco parte aérea/raíz
g de materia seca				
nov 06 (alveolo)	3,5±0,5	-	1,1±0,2	
mar 07 Compost restos de poda+biosólidos	18,0±3,6a	5,2±1,7a	4,4±0,4a	5,2
Compost corteza de pino	10,0±5,1a	3,8±1,5a	3,2±1,2a	4,3
abr 07 Compost restos de poda+biosólidos	17,1±1,5a	7,6±2,5a	8,0±3,2a	3,1
Compost corteza de pino	10,7±5,3a	4,6±1,8a	8,8±5,7a	1,7
may 07 Compost restos de poda+biosólidos	31,2±7,0a	17,4±2,8a	11,8±4,6a	4,1
Compost corteza de pino	18,3±1,1b	6,9±2,5b	6,6±1,6a	3,8
jun 07 Compost restos de poda+biosólidos	40,0±2,2a	21,4±5,8a	11,5±4,3a	5,3
Compost corteza de pino	27,5±4,0b	16,7±4,2b	7,4±1,9a	6,0

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

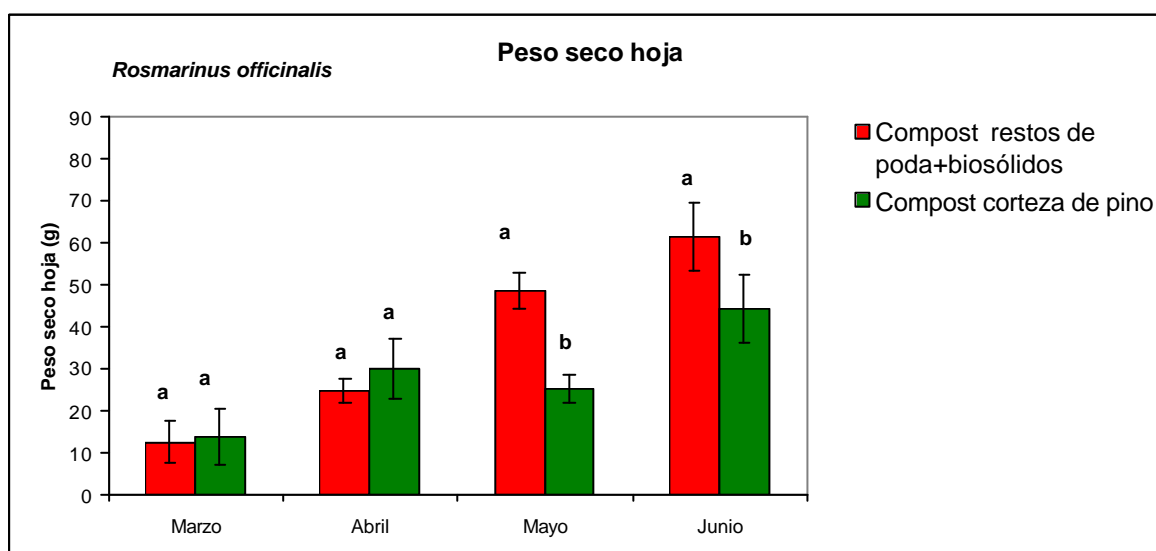


Figura 22: Evolución del peso seco de *Rosmarinus officinalis* en hoja cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y en compost de corteza de pino. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$). Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

Ingelmo *et al.*, (1998), también obtuvieron buenos resultados en *Rosmarinus officinalis* cultivado en contenedor cuando se incluyó un 25% de compost de lodos de depuradora a mezcla de materiales residuales. Cala *et. al.*, (2005), encontraron un incremento significativo de biomasa cuando mezclaron suelo con compost de biosólidos y la planta no aumentó su contenido de metales respecto al control.

4.4.4. Concentración de macronutrientes en planta.

La concentración de macronutrientes en hoja y raíz se observa en las tablas 51 y 52 respectivamente. En hoja, las plantas cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos presentaron una mayor concentración de Ca, debido a que este material presentó un mayor concentración de Ca inicial (tabla 47) y en solución nutriente del sustrato (figura 21). En el mismo sentido, la concentración de K en hoja fue mayor en plantas cultivadas en compost de corteza de pino, al igual que la concentración de P, debido a que este material presentó una mayor concentración de P soluble (tabla 47). No hubo diferencias significativas en la concentración de Mg ni N en hoja entre ambos tratamientos. En raíz, sólo la concentración de Ca fue significativamente diferente para ambos tratamientos, siendo mayor en plantas cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos.

Tabla 51: Concentración de macronutrientes en hoja (%) de *Rosmarinus officinalis* cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino

	sustrato	Ca	Mg	N	P	K
		%				
nov 06	alvéolo	0,72±0,18	0,40±0,02	1,22±0,02	0,16±0,02	1,76±0,53
mar 07	Compost restos de poda+biosólidos	0,80±0,15	0,28±0,04	1,92±0,20a	0,20±0,03b	2,38±0,39
	Compost corteza de pino	0,66±0,11	0,30±0,10	1,39±0,20b	0,28±0,01a	1,97±0,15
abr 07	Compost restos de poda+biosólidos	0,59±0,06	0,22±0,07	1,74±0,08	0,23±0,02b	2,78±0,13
	Compost corteza de pino	0,54±0,06	0,23±0,08	1,30±0,34	0,36±0,04a	2,68±0,13
may 07	Compost restos de poda+biosólidos	0,68±0,04	0,23±0,01	1,79±0,20	0,38±0,02b	2,36±0,22b
	Compost corteza de pino	0,58±0,08	0,23±0,05	1,76±0,03	0,65±0,00a	3,10±0,01a
jun 07	Compost restos de poda+biosólidos	0,71±0,10a	0,17±0,02	1,59±0,11	0,36±0,03b	2,72±0,11b
	Compost corteza de pino	0,53±0,07b	0,17±0,03	1,60±0,15	0,66±0,07a	4,23±0,17a

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 52: Concentración de macronutrientes en raíz (%) de *Rosmarinus officinalis* cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

sustrato		Ca	Mg	N	P	K
		%				
nov 06	alvéolo	0,88±0,15	0,63±0,01	-	0,20±0,03	1,50±0,36
mar 07	Compost restos de poda+biosólidos	0,66±0,08a	0,19±0,06	1,52±0,24b	0,22±0,06a	1,47±0,11
	Compost corteza de pino	0,43±0,05b	0,15±0,02	2,05±0,12a	0,27±0,00a	1,62±0,31
abr 07	Compost restos de poda+biosólidos	0,69±0,08a	0,24±0,03a	1,11±0,10b	0,36±0,07a	3,00±0,86
	Compost corteza de pino	0,45±0,07b	0,18±0,02b	1,89±0,41a	0,44±0,00a	2,52±0,71
may 07	Compost restos de poda+biosólidos	0,89±0,10a	0,34±0,01a	1,27±0,09	0,60±0,00a	2,51±0,65
	Compost corteza de pino	0,62±0,08b	0,20±0,03b	1,55±0,16	0,70±0,18a	2,41±0,09
jun 07	Compost restos de poda+biosólidos	1,12±0,19a	0,23±0,02	1,41±0,12	0,56±0,07b	2,32±0,43
	Compost corteza de pino	0,55±0,01b	0,23±0,02	1,47±0,24	0,66±0,01a	2,31±0,42

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p= 0,05$)

De la tabla 51, se deduce que las diferencias iniciales de composición de los sustratos (tabla 47), así como las diferencias generadas en fertirrigación como consecuencia de un mayor volumen de riego aplicado al compost de restos de poda+biosólidos, debido a sus características hidrofísicas, no produjeron diferencias significativas en concentración de nutrientes en la planta con respecto al compost de corteza de pino. Si consideramos que el compost de restos de poda+biosólidos ha recibido un mayor aporte nutritivo, sólo se presenta una mayor concentración de Ca en hoja, sin embargo, las concentraciones de P y K son significativamente menores que en plantas cultivadas en compost de corteza de pino. La misma interpretación se puede realizar con los datos de concentración obtenidos en la raíz. Al final del ensayo se observan concentraciones superiores de Ca en raíz en plantas cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos que en compost de corteza de pino, y mayores concentraciones de P en la raíz en plantas cultivadas en compost de corteza de pino.

La concentración de Ca, Mg, P y K obtenidos en hoja al final del ensayo se ajustaron a los rangos de referencia obtenidos por Mills (1991) para brotes terminales de hoja, que son para Ca entre 0,48-0,69%; para Mg 0,17-0,40%; para N 2,09-2,52%; para P 0,26-0,35%; y para K entre 2,36-2,55% (tabla 17). El N obtenido fue menor al de referencia para ambos tratamientos mientras que la concentración de K, fue mucho más alta en plantas cultivadas en compost de corteza de pino (4,23%), debido a que esta concentración se encontró en mayor concentración en la solución nutritiva del sustrato (figura 21).

En la figura 23 se muestra la concentración de nutrientes al final del ensayo en hoja de *Rosmarinus officinalis* para ambos sustratos de cultivo.

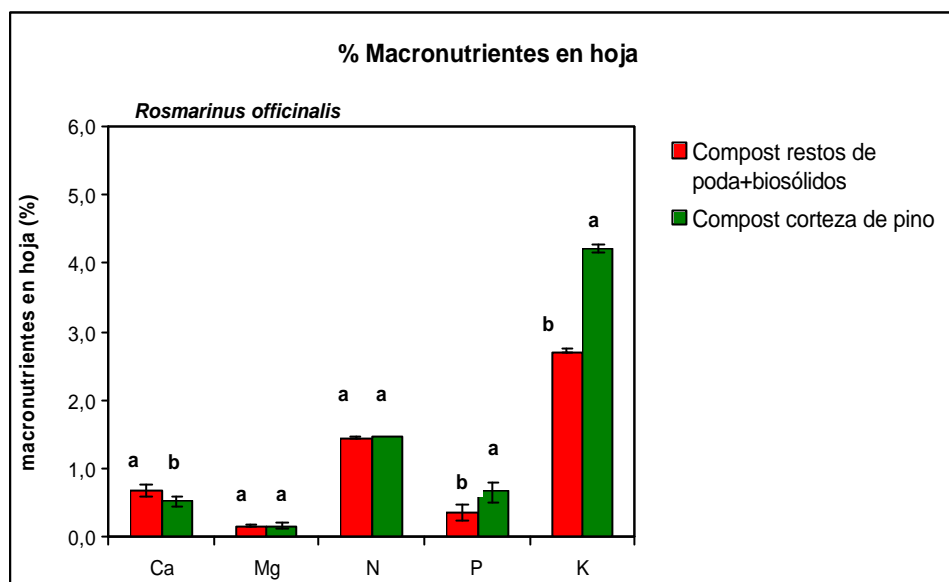


Figura 23: Concentración de macronutrientes en hoja (%) en *Rosmarinus officinalis* al final del ensayo, junio 2007, cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p = 0,05$). Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

4.4.5. Concentración de metales pesados en planta.

Dado que la disolución nutritiva aplicada a las plantas no incluyó micronutrientes, todos los metales pesados proceden de la composición inicial de los materiales (tabla 48). La concentración de metales pesados en hoja de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino se muestra en la tabla 53. Las concentraciones de Cd y Pb no se determinaron en este ensayo, debido a el compost de corteza de pino tiene muy bajas concentraciones respecto al compost de restos de poda+biosólidos, no pudiendo hacer comparativas (tabla 48).

La concentración de Mn fue significativamente mayor en hoja para el compost de corteza de pino desde el inicio del ensayo (tabla 53). A pesar de que el compost de corteza de pino tiene una concentración total de Mn ($74,2 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca) que el compost de restos de poda+biosólidos ($192,2 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca, tabla 48), el pH ácido del compost de corteza de pino (pH 4,0, tabla 47) favoreció la movilidad de Mn

encontrándose principalmente en la fracción soluble de este material, como se mostró en el fraccionamiento químico de Tessier (32,9%, tabla 30).

Tabla 53: Concentración total de metales pesados en mg kg⁻¹ de hoja de *Rosmarinus officinalis* cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino

Sustrato		Cu	Zn	Mn	Fe
mg kg ⁻¹ de materia seca hoja					
nov 06	(alveolo)	15,3±3,0	28,5±3,3	38,2±1,6	383,0±13,7
mar 07	Compost restos de poda+biosólidos	4,2±0,6b	17,5±3,0	17,5±1,1b	66,5±3,5a
	Compost corteza de pino	7,6±1,5a	17,6±1,2	84,3±3,7a	39,4±7,8b
abr 07	Compost restos de poda+biosólidos	2,4±0,0	12,3±1,2	8,9±0,8b	63,3±1,8
	Compost corteza de pino	2,2±0,4	14,4±1,5	100,8±14,3a	47,2±9,5
may 07	Compost restos de poda+biosólidos	2,5±0,3	14,8±2,0	12,8±1,7b	41,1±3,9a
	Compost corteza de pino	2,0±0,3	16,1±1,5	91,8±13,5 a	26,9±9,3b
jun 07	Compost restos de poda+biosólidos	2,3±0,3	14,9±1,5	8,2±0,9b	41,1±2,2a
	Compost corteza de pino	1,7±0,2	14,4±1,2	106,6±7,8a	32,0±3,7b

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Las concentraciones de referencia en hoja son para Mn entre 22-76 mg kg⁻¹ (tabla 17) por lo tanto hay un exceso de Mn en hoja (106,6±7,8 mg kg⁻¹) en plantas cultivadas en compost de corteza de pino, interfiriendo con la entrada de Fe a la hoja, o al efecto antagonista que cita la bibliografía (tabla 5) y reflejada también en una correlación negativa en hoja Fe-Mn (Pearson= -0,668 para N=16, significativa al nivel de $p=0,01$).

La concentración de Fe en hoja fue significativamente mayor en plantas cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos desde el inicio del ensayo, debido a que en compost de corteza de pino el exceso de Mn en hoja interfirió con la absorción de Fe. Además el Fe está presente en una mayor concentración en el compost de restos de poda+biosólidos (tabla 48). La concentración de Cu y Zn en hoja no presentó diferencias significativas entre los tratamientos.

La concentración de metales pesados en tallo de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino se

muestra en la tabla 54. Al igual que en hoja, la concentración de Mn en tallo fue significativamente mayor en planta cultivada en compost de corteza de pino que en compost de restos de poda+biosólidos, desde el inicio del ensayo. Y también como en la hoja, desde el inicio del ensayo, la concentración de Fe en tallo fue significativamente mayor en planta cultivada en compost de restos de poda+biosólidos que en compost de corteza de pino. Se observó una mayor concentración de Zn, en tallo de plantas cultivadas en compost de corteza de pino, siendo significativo a partir de mayo, debido a que un 20% de Zn está asociado al a fracción soluble en el compost de corteza de pino (tabla 30). Respecto al Cu, la concentración al final del ensayo fue significativamente mayor en plantas cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos debido a que en este material presentó una mayor concentración total (tabla 48).

Tabla 54: Concentración total de metales pesados en mg kg⁻¹ de tallo de *Rosmarinus officinalis* cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino.

Sustrato		Cu	Zn	Mn	Fe
		mg kg ⁻¹ materia seca tallo			
mar 07	Compost restos de poda+biosólidos	4,8±0,3a	11,6±1,8	10,5±1,5b	35,2±3,1a
	Compost corteza de pino	3,4±0,5b	13,8±2,2	41,7±4,5a	13,4±2,5b
abr 07	Compost restos de poda+biosólidos	3,0±0,0	11,8±1,2	8,6±1,0b	28,1±4,2
	Compost corteza de pino	2,9±0,9	16,3±3,6	59,1±8,2a	22,5±5,4
may 07	Compost restos de poda+biosólidos	2,5±0,6	15,5±4,3b	9,1±1,7b	16,7±0,3a
	Compost corteza de pino	2,6±0,7	27,2±3,5a	80,7±0,2a	4,6±0,4b
jun 07	Compost restos de poda+biosólidos	1,9±0,2a	13,3±1,8b	7,5±0,2b	13,2±1,2a
	Compost corteza de pino	1,2±0,1b	26,2±3,5a	47,0±1,8a	9,3±1,8b

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

La concentración de metales pesados en raíz de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino se muestra en la tabla 55. También se encontraron diferencias significativas en la concentración de Mn entre los tratamientos desde el inicio del ensayo y a lo largo de todo el cultivo como también en el caso del Fe, pero en éste último las concentraciones mostraron una alta variabilidad. En mayo la disminución de la concentración de Fe en las raíces en ambos

sustratos, con respecto a abril, es atribuible a un mejor procedimiento de limpieza de las mismas, ya que este metal se presenta en altas concentraciones en el sustrato comparadas con los otros metales (tabla 48).

Con respecto al Cu, la concentración en raíz, como en el tallo, fue significativamente mayor en plantas cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos. Mientras que la concentración de Zn no presentó diferencias significativas entre los tratamientos en el transcurso del ensayo.

Finalmente estos resultados coinciden con los obtenidos en el fraccionamiento químico de metales (Tessier) que en el caso de Mn y Zn, en el compost de corteza de pino se encontraron más biodisponibles (tabla 30), lo cual se reflejó en una mayor concentración de Mn y Zn en hoja y tallo respectivamente, comparada con el compost de restos de poda+biosólidos. En el caso del Fe, que se presentó también más biodisponible en el compost de corteza de pino, las concentraciones no fueron mayores en plantas cultivadas en este sustrato, debido al efecto antagonista con el Mn como se comentó anteriormente.

Tabla 55: Concentración total de metales pesados en mg kg⁻¹ de raíz de *Rosmarinus officinalis* cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino

Sustrato		Cu	Zn	Mn	Fe
		mg kg ⁻¹ materia seca raíz			
nov 06	(alveolo)	16,0±2,4	29,9±3,9	32,2±7,3	765,8±98,1
mar 07	Compost restos de poda+biosólidos	16,2±1,7a	29,6±1,0	15,1±1,9b	747,5±74,1a
	Compost corteza de pino	5,8±1,2b	27,7±4,5	52,0±7,1a	301,5±14,4b
abr 07	Compost restos de poda+biosólidos	12,4±1,7a	27,8±1,8	16,4±2,3b	769,9±155,4a
	Compost corteza de pino	6,3±0,5b	28,6± 4,8	52,6±1,4a	370,7±7,6b
may 07	Compost restos de poda+biosólidos	11,6±1,2a	29,3±3,0	20,5±3,0b	294,9±48,6a
	Compost corteza de pino	4,0±1,3b	31,0±3,3	60,2±8,8a	176,6±8,2b
jun 07	Compost restos de poda+biosólidos	11,4±1,9a	30,9±1,7	18,2±1,0b	296,9±97,11
	Compost corteza de pino	4,6±0,7b	36,1±6,2	41,2±3,1a	258,2±11,7

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p= 0,05$)

4.4.6. Contenido de metales pesados en planta.

El contenido de metales pesados en planta se muestra en las tablas 58, 59 y 60 para hoja, tallo y raíz. Aunque la biomasa de la planta condiciona a la hora de comparar

contenidos, se observa un mayor contenido de metales pesados en plantas cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos que en compost de corteza de pino, excepto en el caso de Mn.

Lo más destacable es el alto contenido de Mn en plantas cultivadas en compost de corteza de pino, y un mayor contenido de Fe en plantas cultivadas en compost de restos de poda+biosólidos.

López-Cuadrado (2006) también en este sustrato de corteza de pino, encontró exceso de Mn, indicando que esto generó un menor crecimiento de planta y señalando además, que el problema se puede acrecentar en condiciones reductoras, producidas por un exceso de riego.

Tabla 56: Contenido de metales pesados en hoja (μg) de *Rosmarinus officinalis* cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino

Sustrato		Cu	Zn	Mn	Fe
$\mu\text{g/ hoja}$					
nov 06	(alveolo)	57,2 \pm 12,5	97,4 \pm 11,01	154,8 \pm 61,1	1263,1 \pm 272,9
mar 07	Compost restos de poda+biosólidos	38,4 \pm 21,8	153,4 \pm 80,5	192,0 \pm 44,1	671,5 \pm 147,0
	Compost corteza de pino	55,8 \pm 11,8	139,5 \pm 45,4	764,7 \pm 53,3	260,0 \pm 82,0
abr 07	Compost restos de poda+biosólidos	42,9 \pm 3,5	213,4 \pm 3,9	152,2 \pm 23,4	737,5 \pm 43,5
	Compost corteza de pino	14,0 \pm 2,4	86,4 \pm 24,4	344,6 \pm 21,7	231,8 \pm 130,9
may 07	Compost restos de poda+biosólidos	88,2 \pm 7,1	411,6 \pm 56,2	351,7 \pm 60,5	1278,0 \pm 295,9
	Compost corteza de pino	35,4 \pm 3,9	293,0 \pm 15,7	1556,9 \pm 41,3	555,2 \pm 198,8
jun 07	Compost restos de poda+biosólidos	91,1 \pm 10,6	631,5 \pm 3,7	329,3 \pm 13,5	1242,8 \pm 19,2
	Compost corteza de pino	42,1 \pm 9,3	372,7 \pm 74,4	2995,6 \pm 282,3	815,8 \pm 45,1

Tabla 57: Contenido de metales pesados en tallo (μg) de *Rosmarinus officinalis* cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino

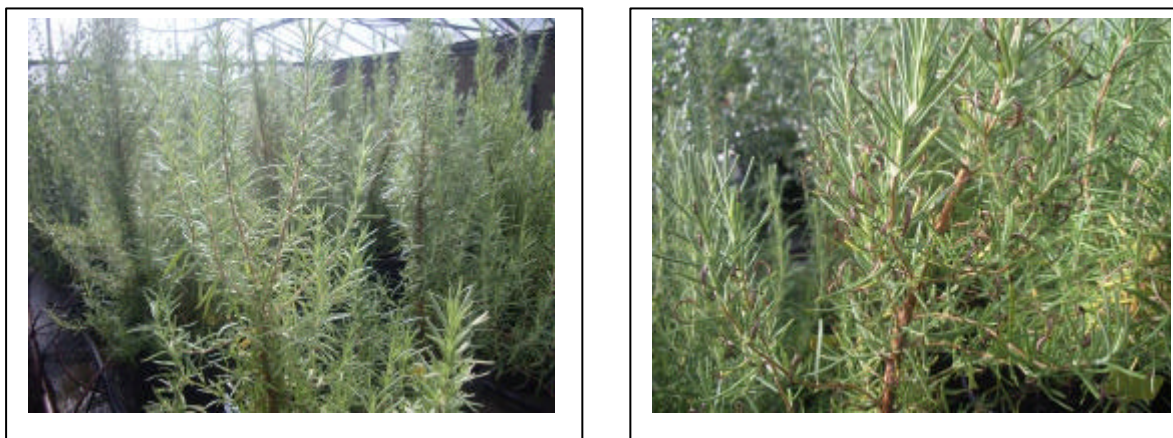
Sustrato		Cu	Zn	Mn	Fe
		$\mu\text{g}/\text{tallo}$			
mar 07	Compost restos de poda+biosólidos	13,4 \pm 4,6	32,0 \pm 16,0	18,9 \pm 0,6	112,9 \pm 63,5
	Compost corteza de pino	13,4 \pm 0,7	63,9 \pm 11,2	169,1 \pm 27,2	62,7 \pm 11,4
abr 07	Compost restos de poda+biosólidos	24,6 \pm 7,6	98,8 \pm 27,1	44,0 \pm 5,0	153,4 \pm 44,8
	Compost corteza de pino	11,6 \pm 2,1	116,4 \pm 27,1	401,5 \pm 4,0	79,1 \pm 10,1
may 07	Compost restos de poda+biosólidos	43,2 \pm 5,4	269,8 \pm 74,9	151,9 \pm 14,1	117,9 \pm 22,0
	Compost corteza de pino	14,4 \pm 3,7	220,3 \pm 19,2	691,4 \pm 19,0	39,2 \pm 4,5b
jun 07	Compost restos de poda+biosólidos	41,6 \pm 8,0	274,0 \pm 36,0	130,0 \pm 14,2	307,6 \pm 36,3
	Compost corteza de pino	17,9 \pm 4,5	395,8 \pm 90,6	905,0 \pm 111,3	179,0 \pm 44,1

Tabla 58: Contenido de metales pesados en raíz (μg) de *Rosmarinus officinalis* cultivados en compost de restos de poda+biosólidos y compost de corteza de pino

Sustrato		Cu	Zn	Mn	Fe
		$\mu\text{g}/\text{raíz}$			
nov 06	(alveolo)	18,01 \pm 6,6	33,3 \pm 10,4	41,5 \pm 16,9	851,4 \pm 275,9
mar 07	Compost restos de poda+biosólidos	33,9 \pm 9,7	64,6 \pm 6,4	35,0 \pm 5,1	791,1 \pm 222,0
	Compost corteza de pino	14,7 \pm 3,8	71,2 \pm 14,0	175,1 \pm 50,0	747,5 \pm 126,0
abr 07	Compost restos de poda+biosólidos	77,1 \pm 17,2	178,9 \pm 34,1	102,9 \pm 22,1	5462,6 \pm 260,9
	Compost corteza de pino	81,9 \pm 0,11	294,2 \pm 86,4	716,8 \pm 3,3b	1520,7 \pm 0,0
may 07	Compost restos de poda+biosólidos	106,9 \pm 22,4	266,9 \pm 45,5	247,1 \pm 119,4	6824,6 \pm 2608,7
	Compost corteza de pino	25,3 \pm 8,0	206,3 \pm 57,8	363,1 \pm 88,2	928,9 \pm 57,4
jun 07	Compost restos de poda+biosólidos	107,7 \pm 20,9	292,9 \pm 67,2	170,9 \pm 22,2	5155,9 \pm 2178,9
	Compost corteza de pino	31,2 \pm 7,6	236,1 \pm 47,9	309,9 \pm 83,9	1656,4 \pm 344,5

Al final del ensayo se observó una clorosis en la hoja en algunas plantas cultivadas en ambos sustratos, atribuible principalmente a las condiciones de alta temperatura del invernadero (tabla 15). Sin embargo, este fenómeno fue mucho más acusado en plantas cultivadas en compost de corteza de pino, donde además se observó

hojas necrosadas y abarquillamiento. La clorosis más acusada en el las plantas de cultivadas en compost de corteza de pino, se debe a una menor concentración de Fe, debido al efecto antagonista que causó el exc eso de Mn.



Fotografía 17: Aspecto del *Rosmarinus officinalis* al final del ensayo, junio 2007, cultivado en compost de restos de poda+biosólidos (izquierda) y compost de corteza de pino (derecha).

De todos estos resultados obtenidos se concluye que el compost de restos de poda+biosólidos es un sustrato adecuado para el cultivo de *Rosmarinus officinalis* previa corrección de la salinidad mediante un lavado y que comparado con el compost de corteza de pino, utilizado comercialmente, no presentó inconvenientes como sustrato de cultivo en contenedor. Sin embargo, éste último, presentó un pH no adecuado, (pH 4,0) y exceso de Mn, no obstante el *Rosmarinus officinalis* se adaptó a estas condiciones. Respecto a las propiedades hidrofísicas del compost de restos de poda+biosólidos, una menor porcentaje de agua fácilmente disponible y agua de reserva en este material hicieron que necesitará más riego que el sustrato comercial (tabla 14). Respecto a su alta densidad (tabla 22), puede ser útil cuando se destina este material al cultivo de plantas de gran tamaño en contenedor, como las arbustivas ornamentales, que son cultivadas en exterior o en régimen de semi-invernadero y requieren un fuerte soporte para no ser arrastradas por el viento.

4.5. ENSAYO 4. MOVILIDAD DE METALES PESADOS EN *ROSMARINUS OFFICINALIS* Y *ATRIPLEX HALIMUS* CULTIVADOS EN COMPOST DE RESTOS DE PODA+BIOSÓLIDOS

El compost de restos de poda+biosólidos ha mostrado la capacidad de retener metales pesados en condiciones de laboratorio (curva de desorción, fraccionamiento químico de metales (Tessier) y en ensayo de columnas de lixiviación). Posteriormente, en el ensayo 2, se han seleccionado las especies arbustivas *Atriplex halimus* y *Rosmarinus officinalis* como susceptibles de ser usadas en estudios de fitoextracción y posteriormente en el ensayo 3 se ha puesto de manifiesto que el compost de restos de poda+biosólidos se puede utilizar como sustrato de cultivo en contenedor. Teniendo en cuenta todos estos antecedentes y los resultados anteriores se realizó un cuarto ensayo, cuyo objetivo fue comprobar el potencial fitoextractor de metales pesados naturalmente presentes en el compost de restos de poda+biosólidos, de las especies *Atriplex halimus* y *Rosmarinus officinalis*.

Las estrategias de fitoextracción asistida utilizando el ácido cítrico en sólido, ha sido empleada por varios investigadores (Salt et. al., 1998, Turgut et. al., 2004; Lesage et. al., 2005; Do Nascimento et. al., 2006; Quartacci et. al., 2006). En el presente ensayo se introduce una variable que es la utilización de ácido cítrico adicionado junto con la disolución nutritiva por fertirrigación. Aunque la concentración de metales pesados en el compost de restos de poda+biosólidos no son elevadas, se debe tener en cuenta que se trata de un material residual cuya valorización como sustrato de cultivo en contenedor fue positiva y por otro lado, esta metodología puede ser útil para adaptar la planta a crecer en presencia de metales pesados, para posteriormente ser transplantadas a suelos contaminados donde el stress abiótico es mayor.

4.5.1. Parámetros de crecimiento y desarrollo de las plantas.

Es este apartado, se presentan los resultados correspondientes a los crecimiento de las plantas en condiciones reales de cultivo y con aporte suplementario de ácido cítrico como movilizar de metales en el sustrato.

Rosmarinus officinalis

En la tabla 59 se muestra el peso fresco y la altura de *Rosmarinus officinalis* durante el transcurso del ensayo. Los valores son ligeramente mayores para el tratamiento sólo con disolución fertilizantes, sin embargo, no existieron diferencias significativas entre los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico (fotografía 18). En la evaluación de peso seco, tampoco se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (tabla 60).

Tabla 59: Peso fresco (g) y altura (cm) de parte aérea en *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

	Tratamiento de riego	Peso fresco parte aérea(g)	altura (cm)
nov 06	agua	12,0±2,4	31,0±7,0
mar 07	agua	88,9±7,7	45,0±9,0
abr 07	Hoagland	87,1±18,7 ^{ee}	52,1±8,0
	Hoagland+cítrico	76,7±7,8	55,7±10,0
may 07	Hoagland	139,4±13,7	61,4±12,4
	Hoagland+cítrico	129,7±32,3	61,4±11,3
jun 07	Hoagland	191,3±38,0	69,8±13,4
	Hoagland+cítrico	187,2±27,4	73,1±22,6

Sin diferencias significativas, entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 60: Peso seco hoja, tallo y raíz (g) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

	Tratamiento de riego	peso seco (g)			Relación peso seco aérea/raíz
		hoja	tallo	raíz	
nov 06	agua	3,5±0,5	-	1,1±0,2	2,8
mar 07	agua	19,1±2,4	6,4±0,9	9,0±2,4	
abr 07	Hoagland	20,2±4,7	8,7±1,8	14,3±6,9	2,0
	Hoagland+cítrico	17,9±1,4	10,8±1,9	10,8±3,3	2,7
may 07	Hoagland	26,3±3,9	14,0±1,5	8,6±1,3	4,7
	Hoagland+cítrico	24,6±7,5	14,3±3,7	10,0±2,4	3,9
jun 07	Hoagland	35,3±13,1	23,8±9,4	12,9±4,1	4,6
	Hoagland+cítrico	37,1±6,5	28,0±6,2	13,5±3,9	4,8

Sin diferencias significativas, entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Atriplex halimus

El peso fresco y la altura de la planta de *Atriplex halimus* se muestra en la tabla 61. Como en *Rosmarinus officinalis* no existieron diferencias significativas entre el peso fresco ni altura entre los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico al final del ensayo (fotografía 15). Tampoco se presentaron en el peso seco de las distintas partes muestras ni en la relación parte aérea/raíz (tabla 62). Al igual que el cultivo anterior, la adición de un agente movilizador de metales sobre el sustrato no ha modificado el desarrollo del cultivo.

Tabla 61: Peso fresco (g) y altura (cm) de parte aérea en *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

	Tratamiento de riego	Peso fresco parte aérea(g)	altura (cm)
nov 06	agua	14,2±0,9	42,0±9,0
mar 07	agua	70,1±20,1	43,0±12,0
abr 07	Hoagland	102,2±19,8a	50,0±13,0
	Hoagland+cítrico	85,1±16,9b	50,0±12,0
may 07	Hoagland	249,1±33,9a	87,0±18,0
	Hoagland+cítrico	194,8±18,8b	78,0±18,0
jun 07	Hoagland	312,2±40,3	122,0±19,0
	Hoagland+cítrico	273,7±23,2	122,0±20,0

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 62: Peso seco hoja, tallo y raíz (g) de *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

	Tratamiento de riego	hoja	tallo	raíz	Relación peso seco aérea/raíz
nov 06	agua	3,7±0,8	-	2,1±0,5	-
mar 07	agua	8,6±2,4	7,5±3,6	5,7±1,4	2,8
abr 07	Hoagland	13,2±1,9	12,6±2,9	15,7±7,7	1,6
	Hoagland+cítrico	10,9±2,2	12,0±3,0	18,7±4,5	1,2
may 07	Hoagland	27,6±5,0	29,2±3,9a	20,4±4,9	2,8
	Hoagland+cítrico	23,7±1,5	21,5±1,8b	19,9±6,6	2,3
jun 07	Hoagland	35,6±4,0	61,1±9,5	38,8±6,4	2,5
	Hoagland+cítrico	33,3±2,5	53,5±7,4	36,1±6,0	2,4

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)



Fotografía 18. Aspecto de las plantas al final del ensayo. *Rosmarinus officinalis* (izquierda) y *Atriplex halimus* (derecha).

4.5.2. Seguimiento de la solución nutriente del sustrato y especiación química

Con el objeto de conocer la evolución de la concentración de los elementos en la solución nutriente del sustrato se realizó un seguimiento con sondas Rhizon cuyos resultados se presentan a continuación. El valor medio de pH y de la concentración de metales pesados de la disolución nutriente se muestran en la tabla 63. Se observa una disminución de pH en la solución en el tratamiento Hoagland+cítrico. La concentración de Cu y Pb fue inferior al límite de detección del aparato de medida para ambos tratamientos, al igual que el Mn en el tratamiento Hoagland. Sin embargo, la concentración de Mn y Fe fue mayor en la solución nutriente del sustrato con el tratamiento Hoagland+cítrico. Para el caso de Zn dicho elemento no se ve afectado por el tratamiento de Hoagland+cítrico. Por todo ello, se puede decir, que ha existido una movilización de Fe y Mn al aplicar el tratamiento de Hoagland+cítrico, ya que la solución nutriente del sustrato extraída con las sondas de succión corresponderá a la fracción acuosa biodisponible.

Tabla 63: Media de la concentración de metales pesados solubles (mg L^{-1}) en la solución nutriente del sustrato extraída con sondas de succión rzhon para *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* al final del ensayo.

Tratamiento	pH	Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
		mg L^{-1}				
Hoagland	6,8	<L.D.	$0,124 \pm 0,033$	>L.D.	>L.D.	<L.D.
Hoagland+cítrico	5,5	<L.D.	$0,106 \pm 0,043$	$0,342 \pm 0,02$	$7,325 \pm 0,551$	<L.D.

< L.D.: menor al límite de detección del aparato de medida

Además se realizó un seguimiento puntual de la disolución a lo largo del cultivo, por ello se presentan los datos quincenales. La evolución del pH de la solución nutriente del sustrato a lo largo del ensayo se muestra en la figura 24, en la que se representan con líneas discontinuas el valor de la disolución Hoagland aplicada. Con el tratamiento Hoagland+cítrico, el pH presentó una mayor variabilidad ambas especies *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* que para el tratamiento Hoagland, donde el pH se mantuvo más o menos constante. Estas diferencias son atribuibles a principalmente a la aplicación de ácido cítrico. Como se comentó en materiales y métodos, durante el mes de abril el ácido cítrico se aplicó junto con la disolución Hoagland, (apartado 3.6.2). Con esta forma de aplicación se observó una contaminación microbiana de la disolución, produciendo una rápida desaparición del ácido cítrico pasando de una concentración inicial de 4 g L^{-1} a $1,6 \text{ g L}^{-1}$ en el mes de abril, por ello se decidió aislar el ácido cítrico en un tanque separado de la disolución nutritiva. Con este procedimiento de aislamiento de ácido cítrico, se consiguió mantener la concentración deseada en torno a 4 g L^{-1} (tabla 19).

Se observa en la gráfica (figura 24), que a partir de mayo el pH de la solución nutriente del sustrato con el tratamiento Hoagland+cítrico disminuye, lo que indica la presencia de una mayor concentración de ácido cítrico en la disolución.

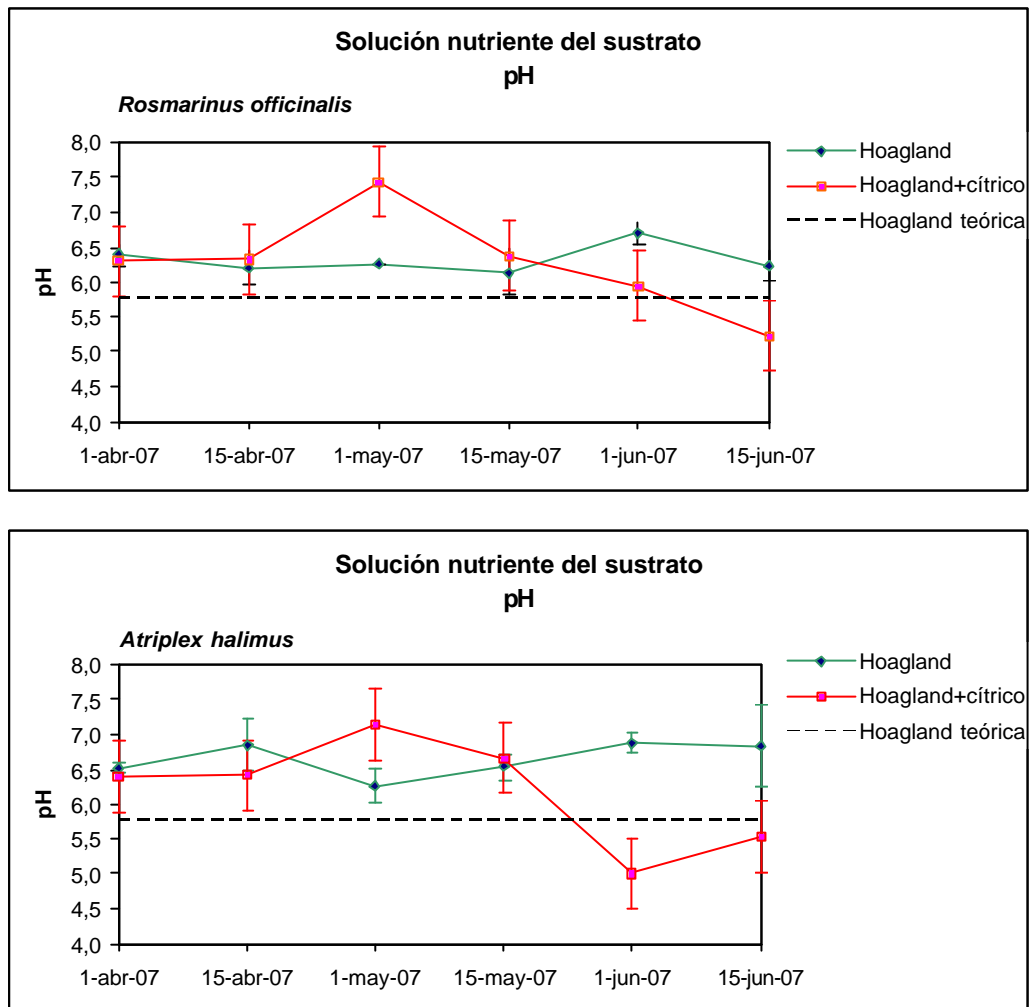


Figura 24: Evolución de pH de la solución nutriente del compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+citrónico para *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus*. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

La conductividad eléctrica de las soluciones nutrientes del sustrato con ambos tratamientos se muestra en la figura 25. Se observa que este parámetro fue menor en el mes de abril para el tratamiento de Hoagland+citrónico en ambas plantas. Con respecto a las diferencias entre especies se puede destacar que la conductividad eléctrica fue mayor en la solución del sustrato para el tratamiento Hoagland en *Rosmarinus officinalis* comparado con *Atriplex halimus*. Esto puede ser atribuible a que el *Atriplex halimus* absorbió más nutrientes del medio.

La concentración de macronutrientes de la solución nutriente del sustrato extraída mediante sondas de succión Rhizon, con los tratamientos Hoagland y

Hoagland+cítrico se muestra en la figura 26 para el *Rosmarinus officinalis* y en la figura 27 para el *Atriplex halimus*.

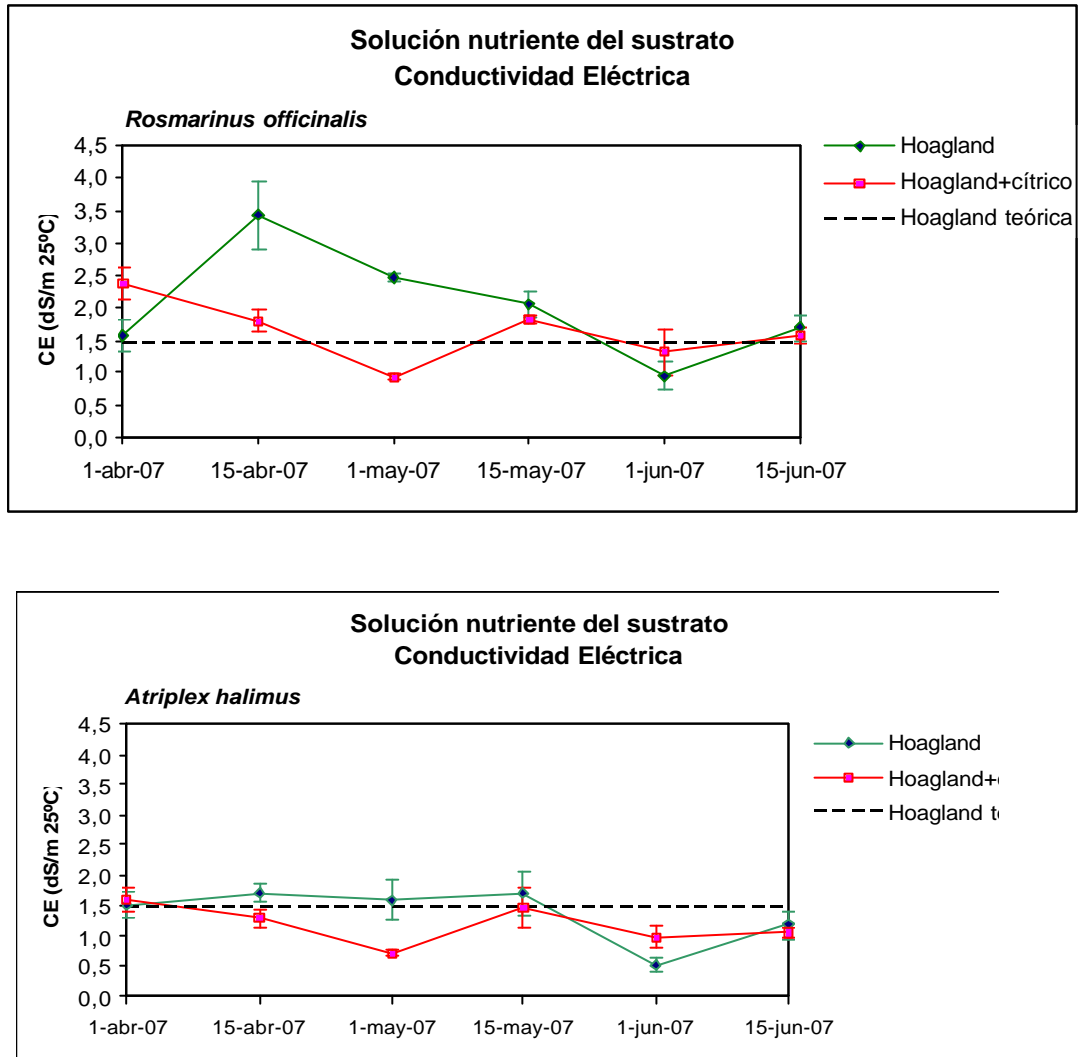


Figura 25: Evolución de la conductividad eléctrica ($\text{dS m}^{-1} 25^\circ\text{C}$) de la solución nutriente del compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico para *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus*. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

En ambas plantas se observa una mayor concentración en general de Ca, Mg y K para el tratamiento Hoagland+cítrico al comienzo del tratamiento (abril), y son superiores a la concentración de cationes añadidas por la disolución Hoagland, debido a contribución inicial del compost de restos de poda+biosólidos y su interacción con la disolución nutritiva. Sin embargo posteriormente hay descenso en la concentraciones de los cationes, coincidiendo con una disminución de la conductividad eléctrica (figura 25), debido a la contaminación microbiana que se observó en el tanque Hoagland+cítrico descrita en el apartado 3.8.1). A partir de mayo, cuando se separa el

ácido cítrico del tanque Hoagland, la concentración de macronutrientes, se mantiene aproximadamente en los mismos niveles para ambos tratamientos. No obstante se observa una alta variabilidad, atribuible al método de sondas de succión (Lee, et. al., 2004).

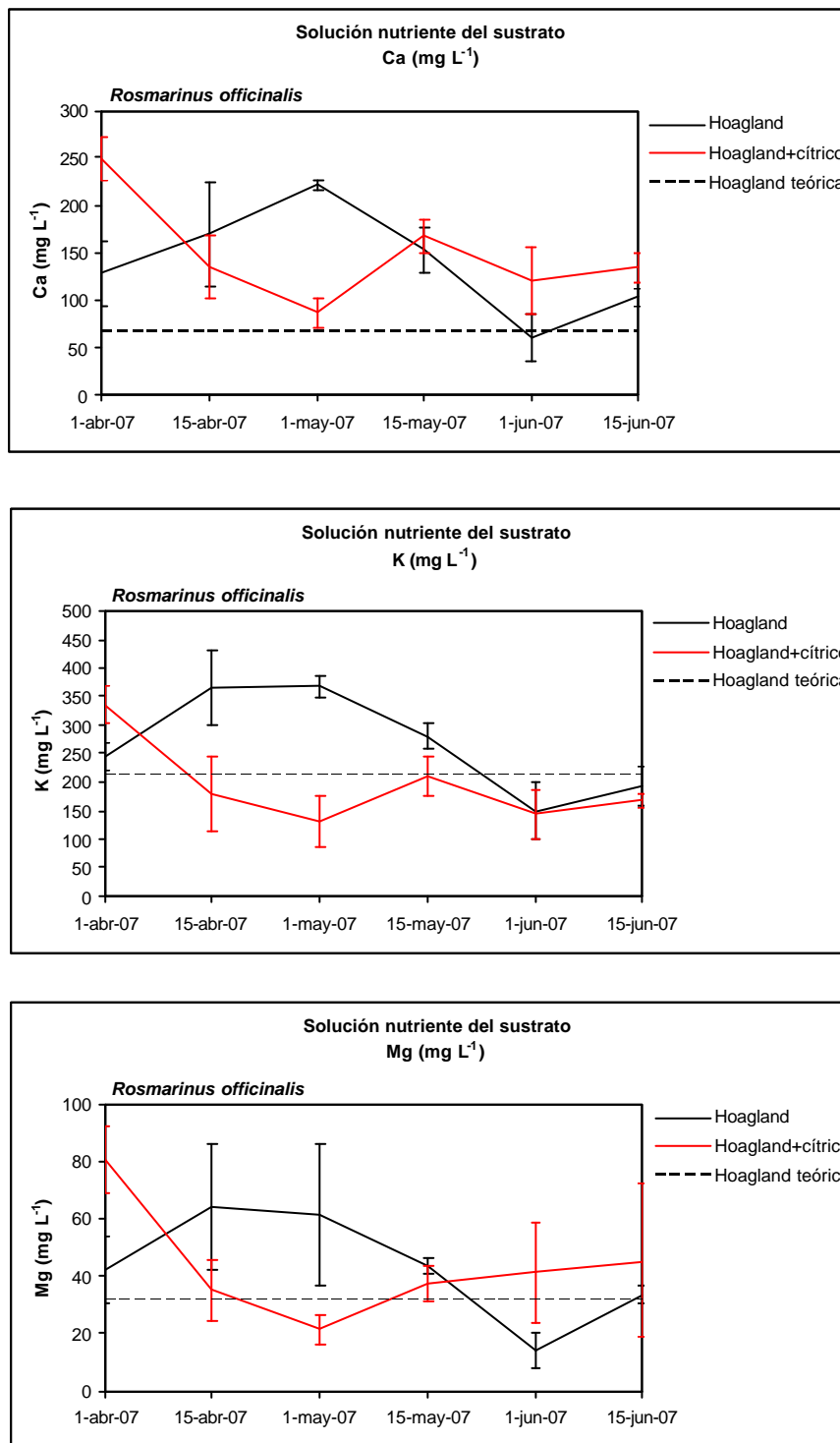


Figura 26: Evolución de Ca, K y Mg (mg L⁻¹) de la solución nutriente del compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico para *Rosmarinus officinalis*. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

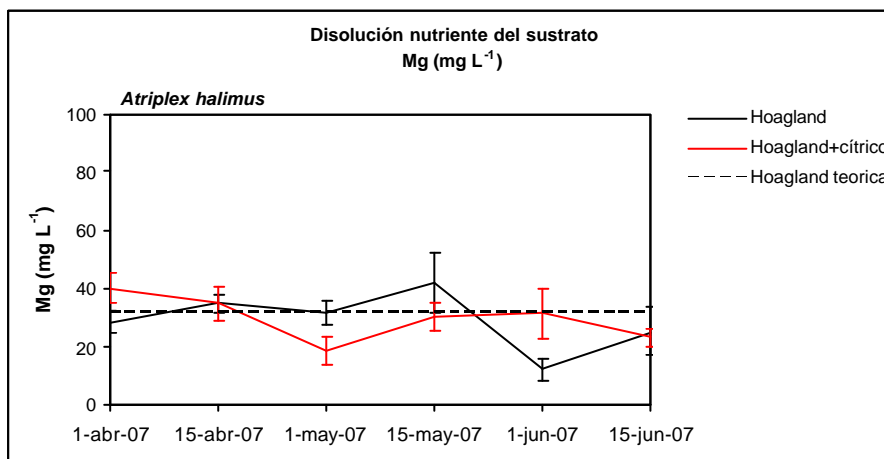
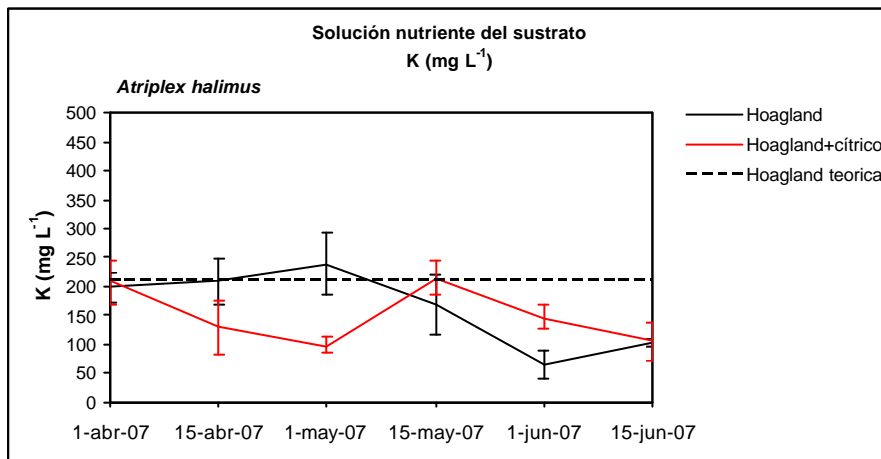
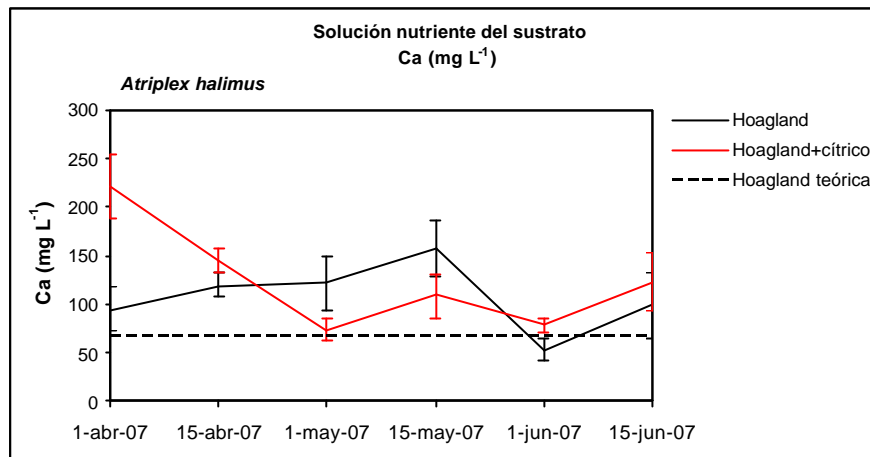


Figura 27: Evolución de Ca, K y Mg (mg L⁻¹) de la solución nutriente del del compost de restos de poda+biosólidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+citríco para *Atriplex halimus*. Las barras corresponden a la desviación estándar de las mediciones.

La composición de la solución nutriente del sustrato, extraída mediante sondas, para el tratamiento Hoagland+cítrico, con pH 5,5 y con una concentración de 4 g L⁻¹ de citrato (teórica) incluyendo los metales pesados en concentraciones de 0,106 de Zn, 3,342 de Mn y 7,325 de Fe en mg L⁻¹ (tabla 63) y los macronutrientes, se modelizó teóricamente mediante el programa Minteq (como se indicó en el apartado 3.10) con el objetivo de evaluar especiación de elementos en presencia de ácido cítrico. Los resultados de dicha especiación se muestran en la tabla 64.

Tabla 64: Especiación química teórica de la solución nutriente del sustrato extraída mediante sondas de succión Rhizon para el tratamiento de riego Hoagland+cítrico (Programa de especiación MINTEQ)

Componente	especie	% de la composición total
Citrato ⁻³	Citrato ⁻³	14,15
	H-Citrato ⁻²	55,47
	H ₂ -Citrato ⁻	7,30
	H ₃ -Citrato (aq)	0,03
	Ca-Citrato ⁻	13,74
	CaH-Citrato (aq)	1,09
	CaH ₂ -Citrato ⁺	0,01
	Mg-Citrato ⁻	6,86
	MgH-Citrato (aq)	0,23
	K-Citrato ⁻²	0,21
	Fe-Citrato (aq)	0,84
	Mn-Citrato ⁻	0,04
	Total (%)	99,99
Ca ⁺²	Ca ⁺²	3,72
	Ca-Citrato-	89,11
	CaH-Citrato (aq)	7,10
	CaH ₂ -Citrato+	0,07
	Total (%)	100,00
Mg ⁺²	Mg ⁺²	3,71
	Mg-Citrato ⁻	93,09
	MgH-Citrato (aq)	3,163
	MgH ₂ -Citrato ⁺	0,037
Total (%)	100,00	
K ⁺¹	K ⁺¹	98,78
	K-Citrato ⁻²	1,22
	Total (%)	100,00
Zn ⁺²	Zn ⁺²	0,21
	Zn-Citrato ⁻	78,69
	Zn-(Citrato)2-4	17,20
	ZnH-Citrato (aq)	3,90
	Total (%)	100,00
Mn ⁺²	Mn ⁺²	1,78
	Mn-Citrato ⁻	91,22
	MnH-Citrato (aq)	7,00
	Total (%)	100,00
Fe ⁺³	Fe-Citrato (aq)	99,99
	Total (%)	99,99

Se observa que el citrato se encontró formando complejos en orden decreciente con el $\text{Ca} > \text{Mg} > \text{Fe} > \text{Mn}$. El Fe y el Mn se encontraron complejados casi totalmente por el citrato (99,9% y 91,2% respectivamente), detectándose solubles (tabla 63). El K, se encontró principalmente como catión libre en la solución (98,8%) y el Zn también se encontró principalmente formado complejos con el citrato (78,69%) pero respecto al total de citrato la concentración de este complejo no fue importante.

Finalmente los resultados del seguimiento de la solución nutriente del sustrato, indican que el tratamiento de riego que incluyó ácido cítrico produjo mayores variaciones en la concentración de macronutrientes, debido principalmente a la forma de aplicación. La mezcla de Hoagland+cítrico en un mismo tanque, se realizó con el objetivo de facilitar la aplicación del tratamiento en las condiciones de invernadero, sin embargo no fue apropiada. El tanque de ácido cítrico debió ser aislado de la disolución Hoagland para evitar la contaminación microbiana. En condiciones de laboratorio, en el ensayo columnas de lixiviación de metales, este fenómeno no ocurrió a pesar que la disolución Hoagland (concentrada) y el ácido cítrico se aplicaron juntos, pero éste último se preparó al momento, por lo tanto no dio lugar a la aparición de contaminación microbiana.

Los resultados de la especiación química teórica (Minteq) indican que el citrato tiene un mayor poder complejante para el Ca, lo que coincidió en general a partir de mayo, con una mayor concentración de este catión en la solución nutriente del sustrato cuando se aplicó el tratamiento ácido cítrico, también para Mg y en menor grado para el K.

En general la aplicación de ácido cítrico disminuye el pH de la solución nutriente del sustrato, considerando un riego diario y abundante con este tratamiento. Las recomendaciones agronómicas indican una aplicación de 3 veces por semana con el principal propósito de facilitar de absorción de micronutrientes por la planta (tabla 10). En este caso aumentó notablemente la concentración de Mn y Fe soluble en la solución nutriente del sustrato con la aplicación de ácido cítrico.

Se observó una compactación del sustrato en el contenedor con la aplicación de ácido cítrico. Lesage et. al., 2005, observaron este mismo fenómeno cuando añadieron al suelo ácido cítrico en sólido en concentración de $0,5 \text{ mol kg}^{-1}$, indicando que el ácido cítrico disuelve carbonatos del suelo provocando su compactación y cambios en las propiedades fisicoquímicas.

4.5.3. Concentración de macronutrientes en planta.

Rosmarinus officinalis

La concentración de macronutrientes en hoja y raíz se muestra en la tabla 65 y 66. En general, la adición de ácido cítrico no pareció afectar la concentración de nutrientes, excepto el P, que en hoja y raíz al final del ensayo fueron menores para el tratamiento de Hoagland+cítrico. El Ca en raíz fue mayor con el tratamiento Hoagland+cítrico, ya que presentó una mayor concentración en la solución nutriente del sustrato con este tratamiento a partir de mayo (figura 26), debido probablemente a una mayor formación del complejo Ca-citrato que se observa en el modelo teórico de Minteq (tabla 64). Teniendo en cuenta los niveles de referencia dados por Mills y Jones (1991), (tabla 17) no existe ningún nivel de macronutrientes que parezca limitante desde el punto de vista del análisis foliar. Sólo el nivel de N resultó estar por debajo de la referencia, lo que se produjo en los anteriores ensayos, pero no afectó al crecimiento de las plantas ni se presentaron síntomas de deficiencia.

Tabla 65: Concentración de macronutrientes en hoja (%) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico

	Tratamiento de riego	Ca	Mg	N	P	K
		%				
nov 06	agua	0,72±0,18	0,40±0,10	1,22±0,07	0,16±0,02	1,76±0,53
mar 07	agua	0,63±0,04	0,22±0,03	1,25±0,24	0,21±0,01	2,26±0,07
abr 07	Hoagland	0,54±0,05	0,19±0,03	1,27±0,09	0,22±0,02a	2,30±0,16
	Hoagland+cítrico	0,57±0,09	0,18±0,08	1,16±0,18	0,19±0,01b	2,13±0,24
may 07	Hoagland	0,73±0,04	0,23±0,03	1,27±0,04b	0,30±0,00a	2,41±0,21
	Hoagland+cítrico	0,78±0,11	0,24±0,05	1,95±0,21a	0,19±0,02b	2,23±0,28
jun 07	Hoagland	0,75±0,04	0,19±0,03	1,53±0,16	0,54±0,12a	2,61±0,35
	Hoagland+cítrico	0,70±0,04	0,17±0,19	1,42±0,33	0,29±0,04b	2,54±0,28

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p= 0,05$)

Tabla 66: Concentración de macronutrientes en raíz (%) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.

	Tratamiento de riego	Ca	Mg	N	P	K
		%				
nov 06	agua	0,79±0,22	0,51±0,15	-	0,63±0,08	1,68±0,45
mar 07	agua	0,67±0,09	0,18±0,03	1,19±0,14	0,23±0,00	1,98±0,22
abr 07	Hoagland	0,92±0,08a	0,24±0,01a	0,91±0,07b	0,18±0,00b	2,55±0,33a
	Hoagland+cítrico	0,72±0,11b	0,20±0,03b	1,31±0,13a	0,41±0,03a	2,02±0,33b
may 07	Hoagland	0,71±0,08b	0,24±0,02b	1,70±0,18	0,22±0,03b	2,50±0,35
	Hoagland+cítrico	0,94±0,03a	0,31±0,02a	1,45±0,11	0,48±0,06a	2,91±0,17
jun 07	Hoagland	0,83±0,094b	0,24±0,04	1,37±0,24	0,55±0,11a	2,31±0,25
	Hoagland+cítrico	0,99±0,162a	0,21±0,03	1,26±0,19	0,41±0,05b	2,08±0,33

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p = 0,05$)

Atriplex halimus

El tratamiento Hoagland+cítrico en general, no afectó a la concentración de nutrientes en esta planta (tabla 67 y 68). No se observaron diferencias en la concentración de P como en el cultivo de *Rosmarinus officinalis*. Sólo la concentración de K en hoja en el mes de abril, fue mayor para el tratamiento Hoagland en correspondencia con una mayor concentración en la solución nutriente del sustrato para este tratamiento (figura 27). La mayor concentración de macronutrientes se observa en general en hoja con respecto a la raíz, excepto para el P. El *Atriplex halimus* está descrita como planta halófila (Luttus et. al., 2004), lo que puede explicar la alta concentración de K en hoja. Sameni y Soleimani (2007) encontraron un 5,9% de Na en hoja y 2,55 % de K en plantas crecidas en suelo en forma natural. Se observó una menor conductividad eléctrica en la solución nutriente del sustrato de esta planta comparado con *Rosmarinus officinalis* (figura 25) y consecuentemente se encontró una menor concentración de K (figura 27), lo que indica que esta planta absorbe más K y lo acumula en una alta concentración en hoja.

Tabla 67: Concentración de macronutrientes en hoja (%) de *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Ca	Mg	N	P	K
%						
nov 06	agua	0,88±0,12	0,56±0,10	2,46±0,40	0,58±0,00	5,15±0,22
mar 07	agua	0,92±0,12	0,91±0,04	2,49±0,34	0,71±0,00	6,79±0,69
abr 07	Hoagland	1,04±0,06	1,08±0,15	3,10±0,32	0,61±0,00	8,35±0,36a
	Hoagland+cítrico	1,08±0,13	1,01±0,09	2,91±0,06	0,63±0,14	7,55±0,82b
may 07	Hoagland	1,14±0,14	0,98±0,10	3,43±0,89	0,70±0,00	9,20±0,59
	Hoagland+cítrico	1,10±0,02	1,10±0,08	3,17±0,45	0,67±0,14	9,48±0,04
jun 07	Hoagland	1,48±0,34	1,26±0,20	2,38±0,37	0,74±0,12	12,7±1,20
	Hoagland+cítrico	1,43±0,08	1,32±0,08	2,06±0,31	0,76±0,07	13,0±0,54

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 68: Concentración de macronutrientes en raíz (%) de *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico

Tratamiento de riego		Ca	Mg	N	P	K
%						
nov 06	agua	0,70±0,10	0,56±0,05	-	0,53±0,03	2,04±0,31
mar 07	agua	0,38±0,08	0,36±0,05	1,93±0,16	0,59±0,10	1,97±0,21
ab 07	Hoagland	0,47±0,05b	0,41±0,05	1,81±0,15	0,78±0,15	1,98±0,16
	Hoagland+cítrico	0,60±0,08a	0,47±0,08	1,65±0,20	0,68±0,043	2,01±0,15
may 07	Hoagland	0,52±0,07	0,46±0,05	1,47±0,13	0,80±0,09	2,22±0,42
	Hoagland+cítrico	0,45±0,02	0,47±0,05	1,89±0,17	0,67±0,14	2,11±0,25
jun 07	Hoagland	0,43±0,06	0,35±0,03	1,40±0,14	0,77±0,14	1,82±0,22
	Hoagland+cítrico	0,48±0,06	0,39±0,07	1,68±0,28	0,82±0,11	2,13±0,39

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Teniendo en cuenta como niveles de referencia para esta especie, como los obtenidos en los trabajos de Niekerk et. al (2004) y Sameni y Soleimani, (2007)(tabla 19) en parte aérea, se observa que la concentración de P y K son mayores en este ensayo, lo que es atribuible al riego con disolución nutritiva y la gran capacidad de esta planta de acumular K.

4.5.4. Concentración de metales pesados en planta.

Cadmio (concentración total en el sustrato 1,9 mg kg⁻¹ materia seca)

El cadmio en la planta se presentó en concentraciones muy bajas, en el límite de detección en cámara de grafito, por lo tanto, se desestimó su seguimiento para el

estudio. La concentración de Cd al final del ensayo se muestra en la tabla 69. En general se observa que la concentración de Cd en *Atriplex halimus* fue mayor que en *Rosmarinus officinalis*.

Tabla 69: Concentración de Cd en hoja ($\mu\text{g kg}^{-1}$ m.s) de *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.

	Tratamiento de riego	<i>Atriplex halimus</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>
		Cd en hoja ($\mu\text{g kg}^{-1}$ m.s)	
junio 07	Hoagland	47,67±14,00	9,00±3,20
	Hoagland+cítrico	59,00±17,38	7,67±1,50

La concentración total de cadmio en el sustrato fue de $1,9 \text{ mg kg}^{-1}$, considerando el fraccionamiento químico de metales pesados (Tessier), el cadmio se encontró en un porcentaje de alrededor de un 25% en la fracción soluble, lo que significa, que teniendo en cuenta la concentración total del metal, es una baja concentración biodisponible.

En otros trabajos donde el Cd se presenta en mayores concentraciones en el sustrato, se ha detectado también mayores concentraciones en planta. Cala et. al, (2005) encontraron una concentración de Cd en parte aérea de $1,19 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca, en *Rosmarinus officinalis* cultivado en suelo (pH 7,9) mezclado con biosólidos, éste último con $3,97 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ materia seca. En otro trabajo, con *Calamagostis epigejos*, en suelo (pH 7,5) y con adición de 20 mg Cd kg^{-1} materia seca, la concentración alcanzó en hoja $1,38 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca (Lehamn y Rebele et. al., 2004).

El *Atriplex halimus* en el ensayo de selección de especies, cultivada sustrato contaminado con 100 mg kg^{-1} de cadmio (tabla 44) alcanzó una concentración en hoja de $34,7 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca. También hay trabajos en hidroponía con esta especie demostrado una gran capacidad de absorber cadmio, alcanzando una concentración en parte aérea de 830 mg kg^{-1} materia seca (Lutts et. al., 2004)

En las tablas 70, 71 y 72 se muestran la concentración de Cu, Zn, Mn Fe y Pb para *Rosmarinus officinalis* y en las tablas 73, 74 y 75 para el *Atriplex halimus*. En general las concentraciones de metales pesados al final del ensayo (junio) son menores respecto a las concentraciones al inicio (noviembre) debido al efecto dilución que se produce con el crecimiento de la planta.

Tabla 70: Concentración total de metales pesados en hoja (mg kg^{-1} m.s) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
		mg kg^{-1} m.s				
nov 06	agua	16,9±4,0	28,5±3,3	32,5±10,0	373,3±116,6	0,8±0,0
mar 07	agua	9,8±0,8	12,6±1,2	17,1±5,0	50,1±12,5	0,6±0,2
abr 07	Hoagland	2,7±0,3	10,3±1,2b	8,5±1,5b	60,6±3,3	1,0±0,2
	Hoagland+cítrico	2,9±0,3	13,0±0,3a	11,7±1,5a	59,9±6,0	0,8±0,3
may 07	Hoagland	2,6±0,2b	12,6±0,6b	8,1±1,0b	40,4±2,9b	1,3±0,1
	Hoagland+cítrico	3,1±0,2a	16,8±1,2a	11,8±0,8a	52,9±5,7a	1,3±0,1
jun 07	Hoagland	2,7±0,1b	10,5±0,7	7,2±1,1b	49,2±5,2b	1,4±0,2
	Hoagland+cítrico	3,3±0,1a	10,8±0,6	11,4±0,7a	76,8±6,8a	1,3±0,1

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 71: Concentración total de metales pesados en tallo (mg kg^{-1} m.s) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Cu	Zn	Mn	Fe
		mg kg^{-1} m.s			
mar 07	agua	4,6±0,7	10,4±1,1	9,0±1,1	31,4±6,4
abr 07	Hoagland	4,6±0,4b	12,8±1,2a	7,6±0,8	28,9±2,6a
	Hoagland+cítrico	5,8±0,5a	9,6±0,7b	6,7±0,6	24,7±1,7b
may 07	Hoagland	2,7±0,1	15,1±0,9	6,8±0,1	14,8±0,7
	Hoagland+cítrico	2,5±0,3	13,3±1,8	7,6±1,0	14,6±3,3
jun 07	Hoagland	2,3±0,2b	13,8±1,3a	6,7±0,5b	12,5±1,2b
	Hoagland+cítrico	2,7±0,2a	11,7±0,6b	7,8±0,2a	21,5±2,4a

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 72: Concentración total de metales pesados en raíz (mg kg^{-1} m.s) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
		mg kg^{-1} m.s				
nov 06	agua	16,0±2,4	29,9±3,9	32,2±7,3	765,8±98,1	2,9±0,7
mar 07	agua	14,5±1,9	25,9±3,2	16,7±2,7	800,4±51,8	5,0±0,6
abr 07	Hoagland	16,0±1,8a	33,0±5,5	25,0±5,1	962,9±101,1	7,2±0,4
	Hoagland+cítrico	11,6±1,2b	32,1±0,8	20,4±3,0	1004,9±108,8	7,3±0,8
may 07	Hoagland	9,2±1,1b	25,8±0,9b	12,5±1,3b	290,4±3,2b	6,4±0,7b
	Hoagland+cítrico	11,7±0,9a	29,1±1,3a	19,6±0,9a	771,4±12,5a	8,9±0,7a
jun 07	Hoagland	8,2±0,9b	32,4±2,0	12,4±2,3b	191,9±5,2b	3,8±0,5b
	Hoagland+cítrico	10,7±1,0a	36,4±4,4	18,9±1,4a	581,1±28,6a	5,9±0,7a

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 73: Concentración total de metales pesados en hoja (mg kg^{-1} m.s) de *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
		mg kg^{-1} m.s				
nov06	agua	10,5±0,43	55,15±5,5	57,0±16,4	132,4±22,5	2,8±0,8
mar07	agua	7,3±0,3	61,7±13,7	31,5±1,2	66,5±4,2	4,6±0,1
abr07	Hoagland	5,4±0,8	65,5±3,5	21,4±2,5b	66,2±3,5b	4,2±0,1
	Hoagland+cítrico	5,8±0,4	64,5±2,2	25,9±2,3a	97,0±7,6a	4,3±0,0
may07	Hoagland	4,6±0,3b	58,7±5,6	21,3±1,6b	67,8±4,0	4,3±0,3b
	Hoagland+cítrico	6,3±0,4a	63,1±2,9a	40,6±2,4a	66,9±5,6	5,5±0,3a
jun07	Hoagland	5,1±0,2	58,9±8,8	25,4±0,30b	44,0±6,9	4,9±0,8
	Hoagland+cítrico	5,3±0,4	53,1±3,3	42,2±2,9a	54,9±11,3	5,3±0,9

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 74: Concentración total de metales pesados en tallo (mg kg^{-1} m.s) de *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Cu	Zn	Mn	Fe
		mg kg^{-1} m.s			
mar 07	agua	7,3±0,9	42,6±4,2	28,6±2,6	24,6±1,9
abr 07	Hoagland	5,0±0,3	42,6±1,8b	26,9±2,2b	23,1±1,2b
	Hoagland+cítrico	4,9±0,2	50,1±7,7a	34,9±5,9a	29,4±1,8a
may 07	Hoagland	4,3±0,5b	34,1±3,7b	19,0±2,3b	14,4±3,2
	Hoagland+cítrico	5,3±0,4a	42,5±3,0a	29,7±2,2a	16,5±2,3
jun 07	Hoagland	4,0±0,2	27,5±3,5	18,3±2,9b	12,3±0,1b
	Hoagland+cítrico	4,3±0,4	30,6±5,0	27,3±3,1a	14,8±0,7a

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 75: Concentración total de metales en raíz (mg kg^{-1} m.s) de *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para los tratamientos Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
		mg kg^{-1} m.s				
nov06	agua	14,8±0,8	43,0±5,5	38,2±6,8	274,8±14,4	4,2±0,2
mar07	agua	8,9±0,9	42,0±2,0	16,7±2,9	124,5±13,0	4,9±0,3
abr07	Hoagland	9,2±0,5	54,5±1,5b	22,6±1,1b	208,3±4,9b	5,4±0,5
	Hoagland+cítrico	8,8±0,4	61,1±2,9a	31,6±3,4a	537,9±40,7a	5,9±0,8
may07	Hoagland	8,6±0,2	59,0±3,7a	24,5±1,9b	235,5±13,2	6,1±0,3
	Hoagland+cítrico	8,2±1,1	43,7±4,3b	31,6±3,6a	282,3±13,9	6,2±0,3
jun07	Hoagland	7,3±0,4	41,6±1,6	22,5±2,1b	61,4±1,5b	4,3±0,4
	Hoagland+cítrico	7,2±0,5	42,3±2,7	29,7±2,9a	147,7±7,5a	4,4±0,4a

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Cobre (concentración total en el sustrato 131,6 mg kg⁻¹ materia seca)

En *Rosmarinus officinalis* (tablas 70, 71 y 72), la concentración de Cu fue mayor en el tratamiento de Hoagland+cítrico en hoja, tallo y raíz al final del ensayo. Se observa que partir de mayo, en hoja aumentó la concentración de Cu, y en raíz desde el inicio del tratamiento Hoagland+cítrico (abril).

En *Atriplex halimus* (tablas 73, 74 y 75) sólo se encontró en hoja una concentración de Cu significativamente mayor con ácido cítrico en el mes de mayo.

Aunque el Cu no se detectó en la solución nutriente del sustrato extraída mediante sondas de succión (tabla 63), en el fraccionamiento químico de metales (Tessier) resultó estar asociado en alrededor de un 0,48% a la fracción soluble (tabla 29).

Zinc (concentración total en el sustrato 312,8 mg kg⁻¹ materia seca)

En *Rosmarinus officinalis*, al final del ensayo, la concentración de Zn no aumentó significativamente con la aplicación del tratamiento con ácido cítrico, al igual que en el *Atriplex halimus*. Esto es atribuible a una menor concentración de Zn en la solución nutriente del sustrato extraída con sondas de succión (0,106 mg L⁻¹) comparado con otros metales como el Mn (0,342 mg L⁻¹) y el Fe (7,325 mg L⁻¹) (tabla 63). En el fraccionamiento químico de metales (Tessier) el Zn se encontró asociado a la fracción soluble en alrededor de un 0,19%, menor que la concentración de Cu (0,48%) y de Mn (7,6%)(tabla 29), mientras que los resultados de especiación teórica del Mínteq el porcentaje del complejo Zn-citrato, respecto al total, no fue importante (tabla 64)

Manganeso (concentración total en el sustrato 192,2 mg kg⁻¹ materia seca)

En *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* la concentración de Mn fue significativamente mayor para el tratamiento con ácido cítrico en hoja, tallo y raíz (tablas 70, 71 y 72; y 73,74 y 75). Este metal pareció muy sensible a la aplicación del tratamiento con ácido cítrico. Se observa que desde el inicio de la aplicación de los tratamientos (abril), la concentración de Mn en hoja fue significativamente mayor con el tratamiento de ácido cítrico en ambas especies.

La concentración de Mn en la solución nutriente del sustrato aumentó considerablemente con la aplicación del tratamiento con ácido cítrico (desde niveles no detectados con tratamiento Hoagland a $0,342 \text{ mg L}^{-1}$ con tratamiento Hoagland+cítrico, tabla 63). El complejo Mn-citrato tiene una menor constante de estabilidad ($\log K 4,2$) que el Zn-citrato ($\log K 5,0$) y Cu-citrato ($\log K 5,9$) (tabla 7), pero los resultados del fraccionamiento químico de metales (Tesier) indican que este metal se encuentra en alrededor de 7,65% asociado a la fracción soluble del material (tabla 29), por lo tanto una mayor concentración de Mn soluble favoreció la formación de Mn-citrato y por lo tanto su movilidad en la planta.

Hierro (concentración total en el sustrato $8513,2 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca)

En *Rosmarinus officinalis*, al igual que en el Mn, la concentración en hoja, tallo y raíz fue significativamente mayor con el tratamiento de Hoagland+cítrico (tablas 70, 71 y 72).

En *Atriplex halimus*, el Fe se encontró en una mayor concentración en tallo y raíz con Hoagland+cítrico al final del ensayo (tablas 74 y 75). Sin embargo, esta diferencia no se presentó en la hoja, como en el caso de *Rosmarinus officinalis*.

El Fe fue el metal de mayor concentración en la solución nutriente del sustrato extraída con sondas cuando se aplicó el tratamiento con ácido cítrico ($7,325 \text{ mg L}^{-1}$, tabla 63), tiene la más alta constante de estabilidad con el citrato respecto a los otros metales ($\log K 11,5$, tabla 7) y es el más abundante en el sustrato ($8513,2 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca, tabla 48). Esto puede explicar la mayor movilidad, en general, de este metal en esta planta cuando se aplicó el tratamiento Hoagland+cítrico.

Plomo (concentración total en el sustrato $80,9 \text{ mg kg}^{-1}$ materia seca)

En *Rosmarinus officinalis* el Pb se encontró en mayor concentración en raíz para el tratamiento de Hoagland+cítrico (tabla 72). En hoja no hubo diferencias significativas (tabla 70) y en tallo, el Pb no fue detectable para ninguno de los tratamientos ni especies.

En *Atriplex halimus* no se encontraron diferencias significativas en la concentración de Pb entre los tratamientos (tablas 73 y 75).

Lo más destacable en cuanto a este elemento es la diferencia en la capacidad de extracción que presenta el *Atriplex halimus* frente al *Rosmarinus officinalis*. Se consideramos resultados obtenidos por otros autores (Kadukova y Kalogerakis, 2007) con plantas de *Tamarix smyrnensis* cultivadas en sustrato orgánico con adición de 800 mg Pb kg⁻¹ de materia seca, obtuvieron una concentración de Pb en hoja entorno a 14 mg kg⁻¹. En *Atriplex halimus* cultivada en este sustrato de restos de poda+biosólidos, con una concentración total de plomo de 80,9 mg kg⁻¹ materia seca, se obtuvo una concentración de Pb en hoja entorno a 5 mg kg⁻¹ materia seca (tabla 73), lo que indica una capacidad fitoextractora muy interesante de esta especie.

4.5.5. Factor de bioacumulación e índice de transporte de metales pesados a la hoja

El factor de bioacumulación se muestra en las tablas 76 y 77 para el *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* respectivamente. En general se observa un mayor factor de bioacumulación para las plantas de *Atriplex halimus*. En el ensayo de selección de especies tolerantes a crecer en medio contaminado (apartado 4.3) con 200 mg Cd kg⁻¹ de materia seca añadido al sustrato de compost de corteza de pino, el cual tenía el metal altamente biodisponible, se obtuvieron factores de bioacumulación de Cd para *Atriplex halimus* entorno a 0,30 y para el resto de las especies 0,10. En el caso de el compost de restos de poda+biosólidos los metales están menos biodisponibles, por lo cual los factores de bioacumulación no son altos. Sin embargo, es destacable, que en el *Atriplex halimus* el factor de bioacumulación de Pb fue mayor que el *Rosmarinus officinalis*.

Tabla 76: Factor de bioacumulación (metal hoja mg kg⁻¹ /metal en sustrato mg kg⁻¹) en *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.

Tratamiento	Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
Hoagland	0,02	0,03	0,04	0,01	0,02
Hoagland+cítrico	0,02	0,03	0,06	0,01	0,02

Tabla 77: Factor de bioacumulación (metal hoja mg kg⁻¹ /metal en sustrato mg kg⁻¹) en *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.

Tratamiento	Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
Hoagland	0,04	0,19	0,13	0,01	0,06
Hoagland+cítrico	0,04	0,17	0,22	0,01	0,07

Respecto al índice de transporte de metal a la hoja, los metales pesados en el *Rosmarinus officinalis* se concentran más en la raíz que en la hoja (tabla 78). Estos resultados indican que esta especie tiene una capacidad fitoestabilizadora en la raíz. Para el tratamiento de Hoagland+cítrico el índice de transporte de Fe a la hoja fue mucho menor que con el tratamiento Hoagland, lo que indica que a pesar de un mayor concentración de Fe en la raíz con la aplicación de ácido cítrico, la planta no lo trasloca proporcionalmente a la hoja. Lo mismo se observó con el plomo.

Para el *Atriplex halimus* el Zn, Mn y Pb se acumulan en la hoja más que en la raíz (tabla 79). Ya se observó la capacidad de transportar metales a la hoja de esta planta (apartado 4.3). Estos resultados que indican que esta especie tiene capacidad fitoextractora. Al igual que en *Rosmarinus officinalis*, para el tratamiento de Hoagland+cítrico el índice de transporte de Fe a la hoja fue menor que en tratamiento Hoagland. Lo que indica que la planta acumula en la raíz el Fe extra que moviliza el tratamiento Hoagland+cítrico.

Tabla 78: Índice de transporte de metal a la hoja (metal hoja mg kg⁻¹ /metal raíz mg kg⁻¹) en *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.

Tratamiento	Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
Hoagland	0,30	0,32	0,58	0,25	0,37
Hoagland+cítrico	0,28	0,30	0,60	0,13	0,22

Tabla 79: Índice de transporte de metal a la hoja (metal hoja mg kg⁻¹ /metal raíz mg kg⁻¹) en *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos al final del ensayo.

Tratamiento	Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
Hoagland	0,69	1,41	1,13	0,72	1,14
Hoagland+cítrico	0,74	1,25	1,42	0,37	1,20

4.5.6. Contenido de metales pesados en planta

Rosmarinus officinalis

El contenido de Cu, Mn y Fe aumentaron significativamente en hoja, tallo y raíz con la aplicación del tratamiento Hoagland+cítrico al final del ensayo (tablas 80, 81 y 82). El contenido de Pb sólo en la raíz fue significativamente mayor con el tratamiento de Hoagland+cítrico (tabla 82), en cambio el contenido de Zn se mantuvo durante todo el ensayo sin diferencias significativas entre ambos tratamientos. No se observaron efectos en la planta por mayor contenido en Cu, Mn y Fe. Respecto a la distribución de los metales en la planta se observó que el contenido es mayor en raíz que en parte aérea. Esta capacidad fitoestabilizadora de la raíz del *Rosmarinus officinalis* ya se había observado en el ensayo de selección de especies (apartado 4.3)

Atriplex halimus

El contenido de Mn es el único que aumentó significativamente en hoja, tallo y raíz con la aplicación del tratamiento Hoagland+cítrico al final del ensayo (tablas 83, 84 y 85). El contenido de Fe en tallo y raíz, fue significativamente mayor con el tratamiento de Hoagland+cítrico. El Cu, Zn y Pb se mantuvieron sin diferencias significativas para los tratamientos. No se observaron efectos en la planta por mayor contenido en Mn en hoja. Respecto a la distribución de los metales en la planta se observó que el contenido es mayor en parte aérea que en raíz para el Cu, Zn y Mn. El Zn se acumula más en hoja que en el tallo. Mientras que el Pb se distribuye proporcionalmente entre hoja y raíz y el Fe se acumula en la raíz más que en hoja.

Tabla 80: Contenido de metales pesados en hoja (μg) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

	Tratamiento de riego	Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
		$\mu\text{g}/\text{hoja}$				
nov06	agua	63,4 \pm 6,1	97,4 \pm 11,0	120,0 \pm 13,7	1248,6 \pm 332,4	2,7 \pm 0,4
mar07	agua	67,5 \pm 6,1	239,1 \pm 7,3	274,2 \pm 36,4	940,5 \pm 170,0	10,1 \pm 3,9
abr07	Hoagland	72,0 \pm 4,7b	245,5 \pm 25,7	157,1 \pm 25,6b	1058,8 \pm 121,6	21,7 \pm 3,9
	Hoagland+cítrico	91,2 \pm 6,5a	224,6 \pm 14,5	196,6 \pm 13,0a	1115,0 \pm 148,9	17,5 \pm 2,8
may07	Hoagland	65,4 \pm 7,1b	348,1 \pm 31,8	206,4 \pm 26,4	1037,4 \pm 80,0b	21,3 \pm 10,0
	Hoagland+cítrico	81,7 \pm 4,6a	348,5 \pm 70,6	240,4 \pm 31,7	1482,8 \pm 278,5a	23,2 \pm 5,3
jun07	Hoagland	82,6 \pm 11,1b	412,6 \pm 80,0	322,5 \pm 54,2b	1550,4 \pm 156,4b	66,7 \pm 1,3
	Hoagland+cítrico	119,2 \pm 7,7a	494,4 \pm 73,5	428,6 \pm 56,0a	2706,7 \pm 386,0a	53,2 \pm 8,9

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 81: Contenido de metales pesados en tallo (μg) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

	Tratamiento de riego	Cu	Zn	Mn	Fe
		$\mu\text{g}/\text{tallo}$			
mar 07	agua	33,1 \pm 7,4	66,5 \pm 4,5	65,9 \pm 16,9	188,9 \pm 42,1
abr 07	Hoagland	38,7 \pm 4,4	103,9 \pm 2,2	54,0 \pm 4,1b	213,5 \pm 6,6b
	Hoagland+cítrico	33,5 \pm 1,3	106,0 \pm 14,0	68,6 \pm 6,8a	265,6 \pm 38,1a
may 07	Hoagland	40,9 \pm 2,7	196,4 \pm 16,7	82,9 \pm 15,9	187,2 \pm 10,7
	Hoagland+cítrico	42,5 \pm 6,3	173,9 \pm 33,1	110,4 \pm 21,6	227,2 \pm 44,2
jun 07	Hoagland	41,2 \pm 7,0b	273,8 \pm 53,7	146,0 \pm 30,5b	253,4 \pm 15,1b
	Hoagland+cítrico	83,0 \pm 10,3a	345,8 \pm 43,9	201,3 \pm 28,5a	480,7 \pm 57,7a

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 82: Contenido de metales pesados en raíz (μg) de *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

	Tratamiento de riego	Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
		$\mu\text{g}/\text{raíz}$				
nov0	agua	15,2 \pm 4,3	29,5 \pm 8,4	48,9 \pm 10,1	721,6 \pm 115,3	2,7 \pm 1,0
mar07	agua	115,4 \pm 31,5	228,1 \pm 53,7	157,6 \pm 43,7	7219,9 \pm 1158,5	44,9 \pm 16,0
abr07	Hoagland	128,1 \pm 18,9	247,5 \pm 32,4	154,9 \pm 3,9b	6920,1 \pm 456,6b	71,1 \pm 14,7
	Hoagland+cítrico	124,1 \pm 16,2	277,7 \pm 25,6	225,5 \pm 24,0a	9361,7 \pm 902,3a	79,3 \pm 11,6
may07	Hoagland	94,2 \pm 17,7b	261,3 \pm 41,7	148,3 \pm 33,5b	2633,2 \pm 252,5b	67,5 \pm 9,8b
	Hoagland+cítrico	127,1 \pm 10,9a	330,8 \pm 47,2	215,7 \pm 20,6a	4390,4 \pm 927,0a	94,4 \pm 15,9a
jun07	Hoagland	110,4 \pm 23,3b	472,3 \pm 89,7	137,4 \pm 31,2b	2919,6 \pm 381,6b	61,4 \pm 11,8b
	Hoagland+cítrico	154,8 \pm 21,0a	510,5 \pm 116,6	281,7 \pm 55,9a	7855,6 \pm 724,8a	103,1 \pm 10,2a

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 83: Contenido de metales en hoja (μg) de *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
$\mu\text{g/hoja}$						
nov 06	agua	38,9 \pm 8,5	185,6 \pm 50,0	208,9 \pm 66,7	490,0 \pm 132,1	10,2 \pm 3,3
mar 07	agua	52,5 \pm 8,6	462,6 \pm 37,5	204,0 \pm 3,1	669,7 \pm 98,7	52,7 \pm 7,6
abr 07	Hoagland	62,6 \pm 1,7	793,7 \pm 55,3a	283,0 \pm 35,0a	845,7 \pm 88,3b	47,7 \pm 8,1
	Hoagland+cítrico	57,5 \pm 7,9	671,1 \pm 86,8b	223,4 \pm 17,4b	1024,2 \pm 101,1a	46,2 \pm 8,1
may 07	Hoagland	138,7 \pm 22,5	1273,0 \pm 271,4	503,1 \pm 26,8b	1991,0 \pm 285,9a	141,3 \pm 32,5
	Hoagland+cítrico	157,7 \pm 21,3	1487,9 \pm 158,1	930,8 \pm 130,2a	1580,5 \pm 284,7b	130,7 \pm 8,1
jun 07	Hoagland	169,0 \pm 12,3	2227,7 \pm 210,7	952,2 \pm 122,7b	1837,5 \pm 346,2	155,0 \pm 20,7
	Hoagland+cítrico	177,4 \pm 12,2	2104,3 \pm 202,6	1295,5 \pm 162,7a	1594,7 \pm 332,6	157,4 \pm 2,9

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 84: Contenido de metales en tallo (μg) de *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Cu	Zn	Mn	Fe
$\mu\text{g/tallo}$					
mar 07	agua	46,4 \pm 12,4	267,3 \pm 51,0	181,8 \pm 54,0	160,4 \pm 33,2
abr 07	Hoagland	62,0 \pm 8,5	574,4 \pm 69,0	282,5 \pm 38,1a	231,5 \pm 60,7a
	Hoagland+cítrico	57,3 \pm 9,3	493,7 \pm 78,9	383,1 \pm 49,5b	415,9 \pm 69,5b
may 07	Hoagland	129,9 \pm 16,7a	999,2 \pm 120,2	633,0 \pm 62,6	282,6 \pm 33,2
	Hoagland+cítrico	106,9 \pm 5,9b	935,9 \pm 120,9	635,3 \pm 64,9	299,5 \pm 43,6
jun 07	Hoagland	239,2 \pm 13,0	1659,5 \pm 175,2	1059,4 \pm 158,0a	639,9 \pm 70,0a
	Hoagland+cítrico	252,7 \pm 10,3	1833,1 \pm 122,5	1366,4 \pm 165,6b	802,8 \pm 126,2b

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

Tabla 85: Contenido de metales en raíz (μg) de *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+biosólidos para el tratamiento Hoagland y Hoagland+cítrico.

Tratamiento de riego		Cu	Zn	Mn	Fe	Pb
$\mu\text{g/raíz}$						
nov 06	agua	40,0 \pm 6,8	82,6 \pm 21,0	94,2 \pm 44,6	556,3 \pm 12,0	9,4 \pm 2,9
mar 07	agua	44,9 \pm 4,5	239,8 \pm 66,6	83,8 \pm 8,8	760,1 \pm 113,6	20,9 \pm 1,8
abr 07	Hoagland	164,5 \pm 35,3	671,4 \pm 283,8	228,3 \pm 41,1b	8500,9 \pm 447,4	104,5 \pm 14,1
	Hoagland+cítrico	131,1 \pm 19,9	822,8 \pm 75,2	483,4 \pm 46,4a	7773,3 \pm 1914,2	104,7 \pm 19,2
may 07	Hoagland	221,9 \pm 9,1	1113,4 \pm 229,4	640,9 \pm 68,9	3797,3 \pm 998,3b	145,2 \pm 16,0
	Hoagland+cítrico	221,7 \pm 40,0	1017,3 \pm 257,6	657,2 \pm 93,4	7996,2 \pm 422,9a	137,5 \pm 12,7
jun 07	Hoagland	295,3 \pm 19,2	1670,3 \pm 231,0	871,2 \pm 83,5b	2879,3 \pm 578,6b	145,2 \pm 24,5
	Hoagland+cítrico	257,1 \pm 36,8	1822,7 \pm 236,3	1052,8 \pm 139,5a	5744,2 \pm 1062,8a	145,5 \pm 8,2

Diferentes letras, en columnas, indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$)

En la tabla 86 y 87 se muestra el incremento porcentual del contenido de metales pesados tras la aplicación de 2 meses del tratamiento con ácido cítrico (4 g L⁻¹) para *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* respectivamente. El porcentaje de incremento de Mn es similar en ambas plantas. Mientras que se observa un alto porcentaje de incremento para el Fe en *Rosmarinus officinalis*.

Tabla 86: Incremento en el contenido de metales pesados (%) en parte aérea de *Rosmarinus officinalis* por aplicación de tratamiento Hoagland+cítrico en compost de restos de poda+biosólidos.

Metal	Hoagland	Hoagland+cítrico	% de incremento
µg/parte aérea			
Cu	123,8	202,2	63,3
Mn	468,5	629,9	34,4
Fe	1803,8	3187,4	76,7

Tabla 87: Incremento en el contenido de metales pesados (%) en parte aérea de *Atriplex halimus* por aplicación de tratamiento Hoagland+cítrico en compost de restos de poda+biosólidos.

Metal	Hoagland	Hoagland+cítrico	% de incremento
µg/parte aérea			
Mn	2011,6	2661,9	32,3
Fe (tallo)	639,9	802,8	25,4

En la figura 28, se muestra el contenido de metales pesados en parte aérea (µg/parte aérea) de *Rosmarinus officinalis* durante el transcurso del ensayo. Se observa que el contenido de Mn aumentó desde el principio con el tratamiento Hoagland+cítrico (abril). El contenido de Cu y Fe fueron mayores significativamente al final del ensayo (junio)

En la figura 29, se muestra el contenido de metales pesados en parte aérea (µg/parte aérea) de *Atriplex halimus*. Se observa que entre todos los metales estudiados, sólo el contenido de Mn aumentó significativamente en la parte aérea con el tratamiento de Hoagland+cítrico a partir de mayo. Para esta especie la adición de ácido cítrico no supone un significativo incremento en la extracción de metales, ya que por sí misma esta especie tiene una alto potencial fitoextractor. Esto se pone de manifiesto especialmente para el Pb, en el que se obtiene una extracción de alto interés para futuros ensayos con esta especie.

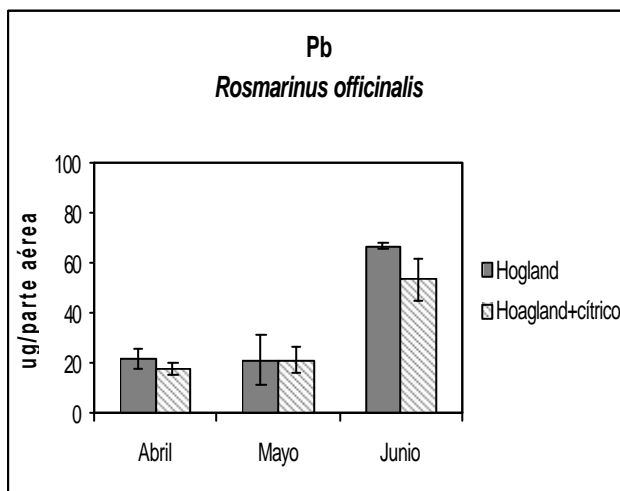
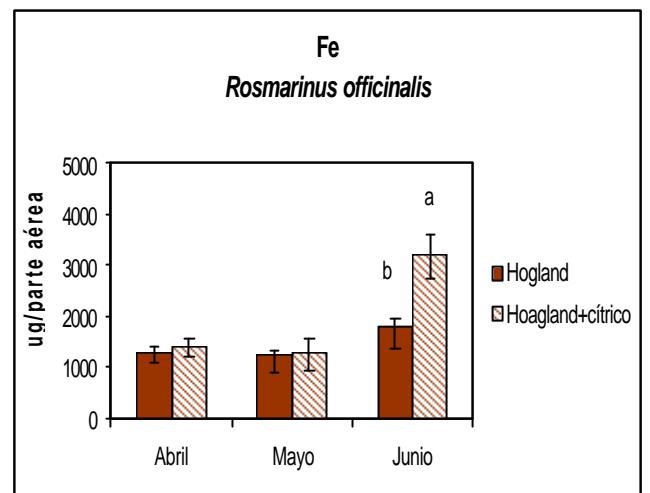
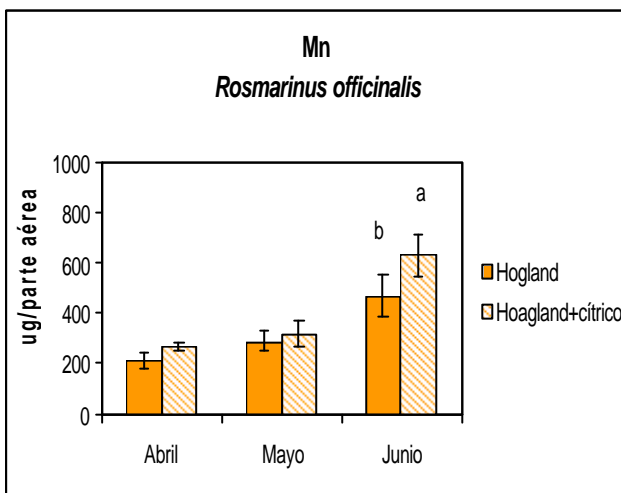
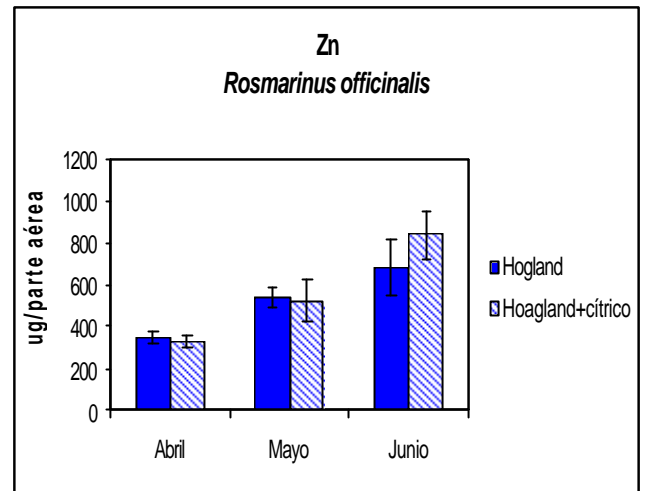
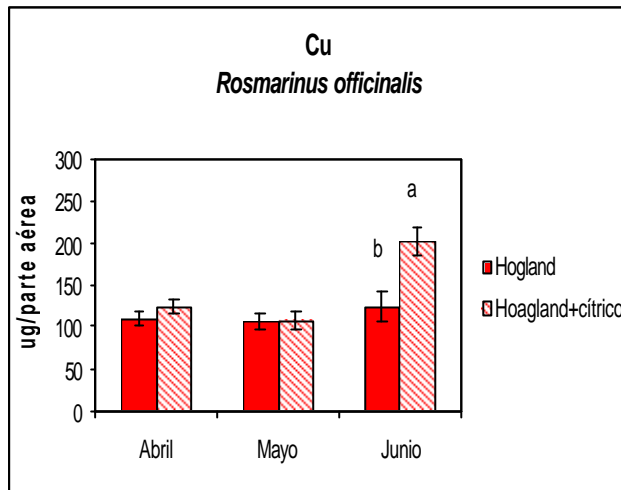


Figura 28: Contenido de metales pesados ($\mu\text{g}/\text{parte a\u00e9rea}$) en *Rosmarinus officinalis* cultivado en compost de restos de poda+bios\u00f3lidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+citr\u00edco. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p = 0,05$). Las barras corresponden a la desviaci\u00f3n est\u00e1ndar de las mediciones.

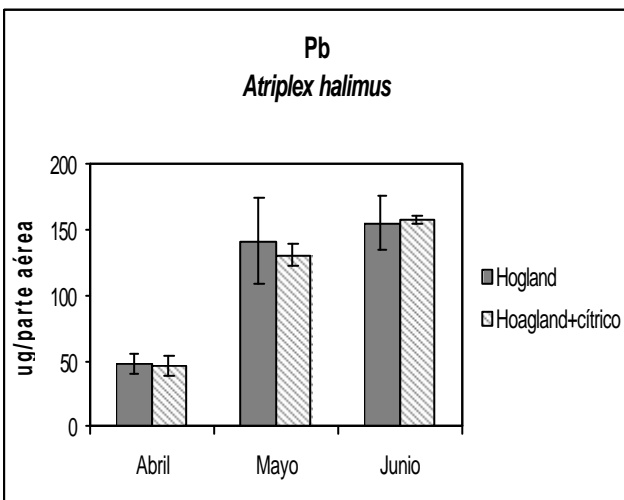
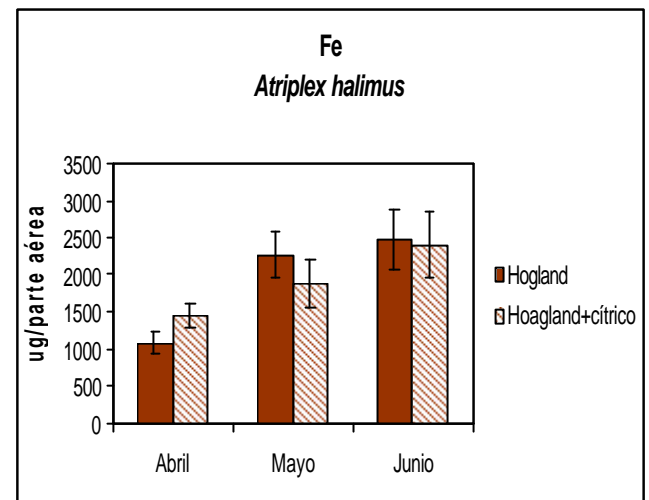
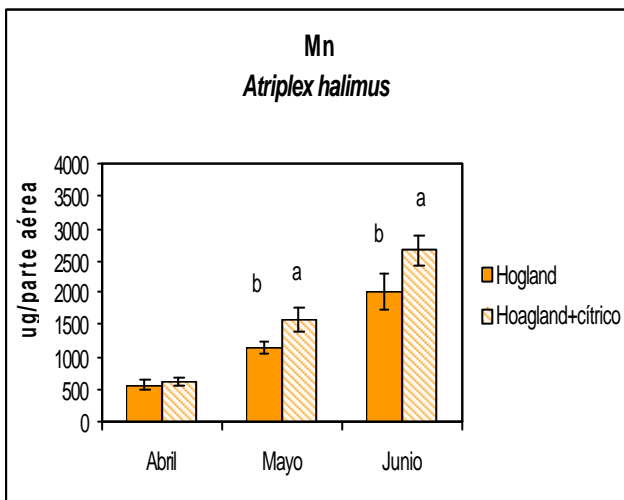
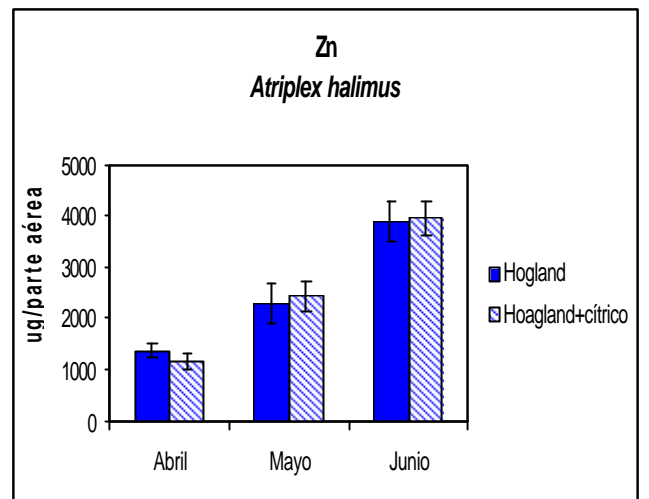
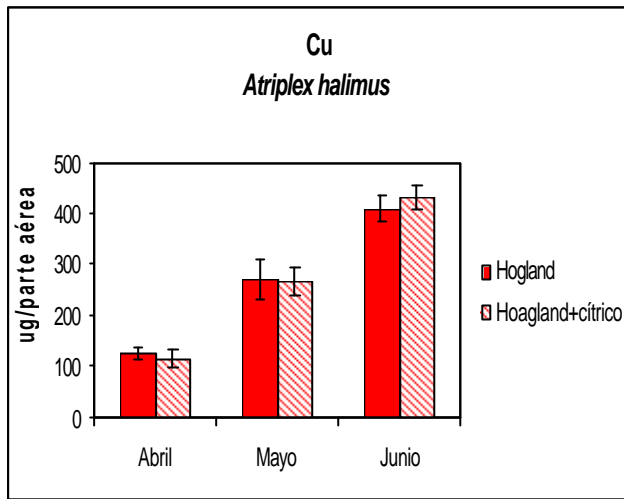


Figura 29: Contenido de metales pesados ($\mu\text{g}/\text{parte a\u00e9rea}$) en *Atriplex halimus* cultivado en compost de restos de poda+bios\u00f3lidos con los tratamientos Hoagland y Hoagland+citr\u00edco. Diferentes letras indican diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo al test de Duncan ($p=0,05$). Las barras corresponden a la desviaci\u00f3n est\u00e1ndar de las mediciones.

De los resultados de este ensayo se desprende que la aplicación del tratamiento de riego Hoagland+cítrico al compost de restos de poda+biosólidos produjo un aumento significativo en el contenido de metales en planta, comparado con el tratamiento de riego Hoagland. En *Rosmarinus officinalis* se encontró un mayor contenido Fe, Mn y Cu en la parte aérea, mientras que, para el *Atriplex halimus* sólo el contenido de Mn aumentó significativamente cuando fue aplicado el tratamiento Hoagland+cítrico. El contenido de Pb aumentó solo en raíz de *Rosmarinus officinalis*, en *Atriplex halimus* no hubo diferencias significativas para este metal.

La planta de *Atriplex halimus* mostró una gran capacidad de transportar metales a la parte aérea (también se observó en el ensayo de selección de especies, apartado 4.3), siendo una especie recomendable para su uso en técnicas de fitoextracción de metales pesados en medios contaminados.

Sin embargo, desde el punto de vista de fitoextracción inducida, la aplicación de ácido cítrico en este sustrato de compost de restos de poda+biosólidos, no fue eficiente. Fue necesario un riego continuado aproximado de 2 meses con ácido cítrico (4 g L⁻¹) para aumentar la concentración de Cu, Fe y Mn en hoja en *Rosmarinus officinalis* y de Mn en *Atriplex halimus*. Lesage et. al., (2005) llegaron a la misma conclusión cuando hicieron ensayos de fitoextracción con ácido cítrico aplicado en sólido en suelos calcáreos.

Para comparar resultados con la bibliografía, se estimó la concentración total aplicada de ácido cítrico. Para ello se consideró un volumen de riego medio total de 30,3 L aplicado por contenedor (tabla 16) con el ácido cítrico en concentración de 4 g L⁻¹, los contenedores tenían un volumen de 5 L, con una densidad del sustrato de 488,6 g L⁻¹ y humedad de 32,6% (tabla 22), lo que resulta en una aplicación total estimada en 74 g de ácido cítrico kg⁻¹ de sustrato seco.

Lesage et. al (2005) aplicaron ácido cítrico en sólido en suelos calcáreos (en dosis de 2-100 g de ácido cítrico kg⁻¹ de suelo), observando que después de 4 semanas no habían diferencias significativas en la concentración de Cd, Cu y Zn en *Helianthus annuus* y además notaron que las concentraciones de ácido cítrico mayores a 10 g kg⁻¹ de suelo, producían una disminución en el crecimiento de esta planta. Sin embargo, en nuestro caso, la concentración de 74 g de ácido cítrico kg⁻¹ no causó problemas de crecimiento en la planta, porque la aplicación no fue en una única dosis, fue agregada paulatinamente en la disolución nutritiva.

Turgut et. al., (2004), no encontraron diferencias en la concentración de metales pesados (Cd, Cr y Ni) en hoja de *Helianthus annuus* cuando aplicaron ácido cítrico en concentración de 1-3 g kg⁻¹ de suelo manteniendo el ensayo por 4 semanas. Quartacci et. al., 2006, en *Brassica juncea* tampoco obtuvieron diferencias significativas en la concentración de metales pesados (Cd, Cu, Pb y Zn) aplicando ácido cítrico en concentración de 1-2 g kg⁻¹ de suelo durante una semana. Sin embargo, de otro punto de vista, la aplicación de ácido cítrico en la disolución nutritiva, como agente quelante de metales pesados, puede ser una metodología útil, en condiciones de vivero, cuando se trata de aclimatar plantas que van ser transplantadas posteriormente en suelos contaminados.

El aspecto de las plantas al final del ensayo se muestra en la fotografía 19.



Fotografía 19: Aspecto de las plantas de *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* al final del ensayo de movilidad de metales pesados. Junio 2007.

5. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos y como resumen del estudio de la movilidad de los metales pesados en sustratos de restos de poda y biosólidos, se puede concluir lo siguiente:

1. De la caracterización del compost de restos de poda+biosólidos destacan unas aceptables propiedades hidrofísicas, un alto valor de pH y conductividad eléctrica, elevada capacidad intercambio catiónico efectiva y un alto grado de humificación. En relación con el compost de corteza de pino, sus propiedades hidrofísicas fueron correctas, presentó un bajo valor de pH, menor conductividad eléctrica y capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE), así como un menor grado de humificación.
2. El fraccionamiento químico de metales pesados (Tessier), después de la contaminación de los materiales con $200 \text{ mg Cd kg}^{-1} \text{ m.s.}$ revela que la fracción orgánica fue la más importante en asociar el Cd y otros metales pesados en el compost de restos de poda+biosólidos. Esta mayor asociación se puede atribuir a las características de la materia orgánica constituyente del compost de restos de poda+biosólidos. Los estudios de CP MAS ^{13}C RMN indican un mayor porcentaje de grupos carboxilo, que aumentan la capacidad de retener metales. Los resultados obtenidos en el compost de corteza de pino muestran que el Cd, Mn y el Zn, están más biodisponibles para las plantas.
3. En cuanto al estudio de disoluciones extractantes se puede afirmar que el agente extractante DTPA- CaCl_2 consigue los mayores porcentajes de extracción de Cd en ambos materiales. Dentro de los ácidos orgánicos de bajo peso molecular, el ácido cítrico, se manifestó como el más efectivo. Ninguno de los extractantes estudiados logró modificar significativamente el pH del compost de restos de poda+biosólidos.
4. Del ensayo de lixiviación en columnas se concluye que el compost de restos de poda+biosólidos no lixivia metales pesados, incluso con un aporte suplementario de cadmio. Por el contrario, el compost de corteza de pino lixivia cadmio y otros metales para todos los tratamientos de riego, como consecuencia de su menor pH, CICE y grado de humificación.
5. La aplicación de compost de restos de poda+biosólidos podría ser útil para inmovilizar metales pesados en suelos contaminados. Ante un exceso de Cd este material presentó la capacidad de fijarlo impidiendo su lixiviación.

6. En el ensayo de selección de especies vegetales, la concentración añadida de 100 mg Cd kg⁻¹ materia seca, en el compost de corteza de pino, no fue tóxica para las plantas de *Atriplex halimus* y *Rosmarinus officinalis*. El *Atriplex halimus* concentró el cadmio principalmente en la hoja y el *Rosmarinus officinalis* en la raíz. Las especies *Phillyrea angustifolia* y *Rhamnus alaternus* toleraron esa concentración de cadmio pero manifestaron un escaso crecimiento, por lo que no fueron consideradas para los ensayos de fitoextracción.

7. En la evaluación agronómica del compost de restos de poda+biosólidos como sustrato de cultivo para *Rosmarinus officinalis* fue necesario un lavado para disminuir la conductividad eléctrica. Los niveles de metales pesados en el compost de restos de poda+biosólidos no excedieron los límites permitidos por la legislación para su uso agrícola. Se obtuvieron mejores resultados de crecimiento en *Rosmarinus officinalis* con compost de restos de poda+biosólidos comparado con el compost de corteza de pino. En el compost de corteza de pino un menor crecimiento de la planta es atribuible al pH ácido y a los altos niveles de Mn en este material.

8. En relación a la movilidad de metales pesados en *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* cultivados en compost de restos de poda+biosólidos con aporte de una disolución nutritiva, se puede afirmar que la adición de ácido cítrico aumenta la concentración foliar de Cu, Mn y Fe para *Rosmarinus officinalis* y Mn para el *Atriplex halimus*. Los niveles de Cd no fueron detectables. Cabe destacar que la adición de ácido cítrico aumentó la concentración de Pb en la raíz de *Rosmarinus officinalis*. Para este metal en *Atriplex halimus* no existieron diferencias con la aplicación de este ácido; sin embargo destaca la gran capacidad fitoextractora de esta planta para este elemento. En ninguna de las dos especies se observaron efectos en los parámetros de crecimiento por una aplicación continua de ácido cítrico.

9. Por último y como conclusión general se puede afirmar que el compost de restos de poda+biosólidos se puede usar como sustrato de cultivo en contenedor, previa corrección de su salinidad. Así mismo presenta una elevada capacidad de retención de metales pesados, evitando la posible contaminación. Respecto a las especies arbustivas autóctonas *Rosmarinus officinalis* y *Atriplex halimus* manifiestan una elevada capacidad fitoestabilizadora y fitoextractora respectivamente.

6. BIBLIOGRAFÍA

Alloway, B.J. 1995. Heavy metals in soils. Ed. Blackie Academic and Professional, UK.

Alonso, E., Callejón, M., Jimenez, J.C., Ternero, M. 2002. Heavy metal extractable forms in sludge from wastewater treatment plant. *Chemosphere* 47, 765-775.

Anderson, P., Davidson, C., Duncan, A., Littlejohn, D., Ure, A., Garden, L. 2000. Column leaching and sorption experiments to assess the mobility of potentially toxic elements in industrially contaminated land. *Journal of Environmental Monitoring* 2, 234.

Ansorena, J., 1994. Sustratos. Propiedades y caracterización. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.

Antoniadis, V., Alloway, B.J. 2002. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environmental Pollution* 117. 515-521.

Barceló, J., Nicolás, R., Sabater B., Sánchez, R. 1987. Fisiología vegetal. Ediciones Pirámide, Madrid.

Barton, L., Abadía, J. 2006. Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Springer. Netherlands.

Benito, M. 2002. Compostaje de restos de poda: evaluación de la madurez, estabilidad y aplicación agronómica. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid, España.

Bernal, M.P., Clemente, R., Vazquez, S., Walter, D.J. 2007. Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar. *Ecosistemas*. 2007/2, 68-82.

Bohn, H., McNeal, B., O'Connor, G. 1993. Química del Suelo. Ed. Limusa, México.

Bolan, N.S., Adriano, D.C., Duraisamy, P., Mani, A. 2003. Immobilization and phytoavailability of cadmium in variable charge soils. III. Effects of biosolids compost addition. *Plant and Soil* 256, 231-241.

Bugbee, G.J., Elliot, G.C. 1998. Leaching of nitrogen and phosphorus from potting media containing biosolids compost as affected by organic and clay amendments. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 716-723.

Burés, S. 1997. *Sustratos*. Ediciones Agrotécnicas. Madrid. España.

Cabrera, R. 1998. Monitoring chemical properties of container growing media small soil solution samplers. *Scientia Horticulturae* 75, 113-119.

Cai, Q., Mo, C., Wu, Q., Zeng, Q., Katsoyiannis, A. 2007. Concentration and speciation of heavy metals in six different sewage sludge-compost. *Journal of Hazardous materials* 147, 1063-1072.

Cala, V; Cases, M.A; Walter,I. 2001. Biomass production and heavy metal content of *Rosmarinus officinalis* grown on organic waste-amended soil. *Journal of Arid Environments* 62, 401-412.

Costa, F., García, C., Hernández, T., Polo, A. 1991. *Residuos orgánicos urbanos. Manejo y utilización*. CSIC, España.

Chen, J., McConnell, D., Robinson, C., Caldwell, R., Huang, Y., 2002. Production and interior performances of tropical ornamental foliage plants grown in container substrates amended with composts. *Compost Science & Utilization.*, 10(3), 217-225.

Cunningham, S.D.; Ow, DW. 1996. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol.*,110, 715-719.

Do Nascimento, W., Amarasiriwardena,D., Xing, B. 2006. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from multi-metal contaminated soil. *Environmental Pollution* 140, 114-123.

Domínguez, A. 1988. *Los microelementos en agricultura*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.

Eymar, E., Martín-Rueda, I., Muñoz-Guerra, L.M., Esteban, E., Gárate, A., Lucena, J.J., Cadahía, C. 2002. Impacto de fertilizantes nitrogenados y practicas agrícola sobre la calidad de las aguas. . Estudio con columnas de suelos. *La Gestión y el Control del Agua frente a la Directiva Marco*. Varios Editores Madrid. 211-217.

Fernández, J. 2007. Transformaciones de la materia orgánica en suelos enmendados con lodos de depuradoras urbanas: implicaciones agronómicas y ambientales. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid, España.

Foth, H. 1986. Fundamentos de la ciencia del suelo. Ed Continental S.A. México.

Fuentes, A., Lloréns M., Saéz, J., Soler, A., Aguilar, M., Ortuño, J., Meseguer, V. 2004. Simple and sequential extractions of heavy metals from different sewage sludge. *Chemosphere* 54, 1039-1047.

Ghosh, M., Singh, S.P. 2005. A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. *Environmental Pollution* 133. 365-371.

Guerrero, F., Gascó, J., Hernández-Apaolaza, L. 2002. Use of pine bark and sewage sludge compost as components of substrates for *Pinus pinea* and *Cupressus arizonica* production. *Journal of Plant Nutrition* 25, 129-141.

Halim, M., Conte, P., Piccolo, A. 2003. Potential availability of heavy metals to phytoextraction from contaminated soils induced by exogenous humic substances.

Hernández, D. 2006. Utilización del purín de cerdo como enmienda orgánica en suelos degradados: valoración agronómica y ambiental. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. España.

Hettiarachchi, G., Ryan, J., Chaney, R., La Fleur, Ch. 2003. Sorption and desorption of cadmium by different fractions of biosolids-amended soils. *J. Environ. Qual.* 32, 1684-1693.

Illera, V. 1998. Especiación de metales pesados en suelos degradados de la CAM tratados con lodo de depuradora y residuo sólido urbano. Memoria presentada para optar al grado de Licenciada en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Madrid, España.

Ingelmo, F., Canet, R., Ibañez, M.A., Pomares, F., García, J. 1998. Use of MSW compost, dried sewage sludge and other wastes as partial substitutes for peat and soil. *Bioresource Technology* 63 pág.: 123-129.

Jalali, M., Khanlari, Z.V. 2006. Mobility and distribution of zinc, cadmium and lead in calcareous soils receiving spiked sewage sludge. *Soil and Sediment Contamination* 15, 603-620.

Kadukova, J., Kalogerakis, N. 2007. Lead accumulation from non-saline and saline environment by *Tamarix smyrnensis* Binge. European Journal of soil Biology 43, 216-223.

Lee, T., Lai, H., Chen, Z. 2004. Effect of chemical amendments on the concentration of cadmium and lead in long-term contaminated soil. Chemosphere 57, 1459-1471.

Lesage, E., Meers, E. 2005. Enhanced phytoextraction II: Effect of EDTA and citric acid on heavy metal uptake by *Helianthus annuus* from a calcareous soil. International Journal of Phytoremediation 7, 143-152.

Lehmann, C., Rebele, F. 2004. Assessing the potential for cadmium phytoremediation with *Calamagrostis epigejos*: a pot experiment. International Journal of Phytoremediation 6 (2), 169-183.

Li, Z., Ryan, J., Chen, J. Al-Abed, S. 2001. Adsorption of cadmium on biosolids-amended soils. J. Environ. Qual 30, 903-911.

Lindsay, W. 1979. Chemical soil. John Wiley & Sons New York.

López, G. 2002. Guía de los árboles y arbustos de la Península Ibérica y Baleares. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.

Lopez-Cuadrado, M., Ruiz, J., Masaguer, A. 2006. Producción de planta ornamental en contenedor con sustratos alternativos a la turba. Ensayos en la Comunidad de Madrid. Instituto madrileño de investigación y desarrollo rural, agrario y alimentario (IMIDRA). M-53013.

López-Cuadrado, M. 2006. Estudio de sustratos de cultivo alternativos para la producción de planta ornamental en contenedor en la comunidad de Madrid. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. España.

Lutts, S., Lefère, I., Delpèree, C., Kivits, S., Dechamps, C., Robledo, A., Correal, E. 2004. Heavy metal accumulation by halophyte species Mediterranean saltbush. J. Environ. Qual., 33, 1271-1279.

M.A.P.A. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1994. Métodos Oficiales de Análisis tomo III. Edita Secretaría General Técnica, España.

- McBride, M.B., Richards, B.K., Steenhuis, T. 2004. Bioavailability and crop uptake of trace elements in soil columns amended with sewage sludge products. *Plant and Soil* 264, 71-84.
- McLaughlin, M.J., Singh, B.R. 1999. Cadmium in soil and plants. Ed. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Merrington, G., Oliver, I., Smernik, R.J., McLaughlin, M.J. 2003. The influence of sewage sludge properties on sludge-borne metal availability. *Advances in Environmental Research* 8, 21-36.
- Merrington, G., Smernik, R.J. 2004. Cadmium sorption in biosolids amended soils: results from a field trial. *Science of the Total Environment* 327, 239-247.
- Mills, HA; Jones, JB. 1991. *Plant analysis handbookII*: MicroMacro Publishing Inc. Athens GA.
- Ministerio del Medio Ambiente, 2000. Estudio del Mercado del Compost. Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental.
- Ministerio del Medio Ambiente, 2001. Plan Nacional de Lodos de Depuradoras de Aguas Residuales 2001-2006. Resolución 13435. BOE núm. 166. Pág.: 25297-25304. España.
- Ministerio de Medio Ambiente, 2006. II Plan Nacional de lodos de depuradoras de aguas residuales-EDAR II PNLD. Borrador. (2007-2015).
- Navarro,G. 2003. *Química Agrícola*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid-Barcelona-México.
- Niekerk Van, W.A., Sparks, C.F., Rethman, N.F.G., Coertze, R.J. 2004. Mineral composition of certain *Atriplex* species and *Cassia sturtii*. *South African Journal of Animal Science*. 34:105-107.
- Porta, J., López-Acevedo, M., Roquero, C. 2003. *Edafología para la agricultura y el medio ambiente*. Ed. Mundi-Prensa Madrid.
- Preston, C.M., Forrester, P.D. 2004. Chemical and carbon-13 cross-polarization magic-angle spinning nuclear magnetic resonance characterization of logyard fines from british Columbia. *J. Environ. Qual.* 33, 767-777.
- Quartacci, M., Argilla, A., Baker, A., Navari-Izzo, F. 2006. Phytoextraction of metals from a multiply contaminated soil by Indian mustard. *Chemosphere* 63, 918-925.
- R.D 824/2005. 2005. Real decreto sobre productos fertilizantes. Resolución 12378. BOE núm. 171. Pág.: 25592-25669. España.
- Roletto, E., Barberis, R., Consiglio, M., Jodice, R. 1985. Chemical parameters for evaluating compost maturity. *Biocycle* 26 (2) 46-47.

- Rouessac, F., Rouessac, A. 2000. Análisis químico. Editorial McGraw Hill, Madrid.
- Salt, D., Smith, R., Raskin, I. 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49, 643-648.
- Sameni, A., Soleimani, R. 2007. Crude protein, phosphorus, common salt and mineral composition of range plants and their composition of range plants and their nutritive value for grazing ruminants in southern Iran. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 38, 1-13.
- Scancar, J., Milacic, R., Strazar, M., Burica, O. 2000. Total metal concentrations and partitioning of Cd, Cr, Cu, Fe, Ni and Zn in sewage sludge. *The Science of Total Environment* 250, 9-19.
- Sanchez-Monedero, M.A., Mondini, C., de Nobili, M., Leita, L., Roig, A. 2004. Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of treated organic matter. *Waste Management* 24, 325-332.
- Shuman, L.M., Dudka, S., Das, K. 2002. Cadmium forms and plant availability in compost-amended soil. *Commun. Soil. Sci. Plant. Anal* 33, 737-748.
- Siguero, P. 1999. Manual de reforestación con especies autóctonas. Edita Pedro Siguero Llorente, ISBN84-605-8561-1. España.
- Soler, P., Alonso, N., Polo, A. 1997. Destino de los lodos de depuradoras: Un reto ante el siglo XXI. *Residuos* N° 38 pág.: 16-21.
- Soler, P., Polo, A. 1998. Problemática de los metales pesados en los lodos de depuradoras. *Residuos*, N°40 pág.: 22-27.
- Song Q., Greenway, G. 2003. A study of the elemental leachability and retention capability of compost. *Journal of Environmental Monitoring* 2, 234.
- Sposito, G., 1989. *The Chemistry of soils*. New York Oxford.
- Stacey, S., Merrington, G., McLaughlin, M.J. 2001. The effect of aging biosolids on the availability of cadmium and zinc in soil. *European Journal of Soil Science* 52, 313-321.
- Stevenson, F.J. 1994. *Humus Chemistry*. Ed. John Wiley And Sons, inc. NY.
- Strobel, B. W., Borggaard, O.K., Hansen, H.C.B., Andersen, M.K., Raulund-Rasmussen, K. 2005. Dissolved organic carbon and decreasing pH mobilize cadmium and copper in soil. *European Journal of Soil Science* 56, 189-196.
- Tan, L.P., He, J., Lee S., 1999. Physiological responses of certain ornamental plants to sludge and Artificial topsoils derived from flyash, sludge, and rengam series subsoil. *Journal of plant nutrition*, 22(6), 987-999.

Turgut, C., Pepe, M., Cutright, J. 2004. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr and Ni from soil using *Helianthus annuus*. Environmental Pollution 131, 147-154.

UNE-EN 13037, 1999. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Determinación de pH. AENOR, España.

UNE-EN 13038, 2001. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Determinación de conductividad eléctrica. AENOR, España.

UNE-EN 13039, 2001. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Determinación del contenido de materia orgánica y de las cenizas. AENOR, España.

UNE-EN 13040, 2001. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Preparación de muestras para ensayos químicos y físicos, determinación del contenido de materia seca, contenido de humedad y densidad aparente compactada en laboratorio. AENOR, España.

UNE-EN 13041, 1999. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Determinación de las propiedades físicas Densidad aparente seca, volumen de aire, volumen de agua, valor de contracción y porosidad total. AENOR, España.

UNE-EN 13650, 2002. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Extracción de elementos solubles en agua regia. AENOR, España.

UNE-EN 13651, 2002. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Extracción de nutrientes solubles en cloruro cálcico/DTPA (CAT). AENOR, España.

UNE-EN 13652, 2002. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Extracción de nutrientes y elementos solubles en agua. AENOR, España.

UNE-EN 13654-1, 2002. Mejoradores de suelo y sustratos de cultivo. Determinación de nitrógeno. AENOR, España.

Vaca-Paulín, R., Esteller-Alberich, M.V., Lugo-de la Fuente, J., Zavaleta-Mancera, H.A. 2006. Effect of sewage sludge or compost on the sorption and distribution of copper and cadmium in soil. Waste Management 26, 71-78.

Vázquez, S. 2006. Mecanismos de resistencia al cadmio y al arsénico en plantas de altramuz. Aplicación en fitorrecuperación de suelos. ISBN 84-8344-053-9. Ediciones Universidad Autónoma de Madrid,

Walter, I., Martínez, F., Cala, V. 2006. Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage aludges for agricultural uses. Environmental Pollution 139, 507-514.

Warwick, P., Hall, A., Pashley, Van der Lee, V., Maes, A. 1997. Zinc and cadmium mobility in sand: effects of pH, speciation, cation exchange capacity (CEC), humic acid and metal ions. *Chemosphere* 36, 2283-2290.

Wasay, S., Barrington, S., Tokunaga, S. 2001. Organic acids for in situ remediation of soils polluted by heavy metals: soil flushing in columns. *Water, Air and Soil Pollution* 127, 301-314.

Wu, Q., Xu, Z., Meng, Q., Gerard, E., Morel, J. 2003. Characterization of cadmium desorption in soils and its relationship to plant uptake and cadmium leaching. *Plant and Soil* 258, 217-226.

Zhang, M.K., He, Z.L., Stoffela, P.J., Calvert, D.V., Yang, X.E., Xia, Y.P., Wilson, S.B. 2004. Solubility of phosphorus and heavy metals in potting media amended with yard waste-biosolids compost. *J. Environ. Qual.*, 33, 373-379.

Zmora-Nahum, S., Markovitch, O., Tarchitzky, J., Chen, Y. 2005. Dissolved organic carbon (DOC) as a parameter of compost maturity. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 2109-2116.

Zmora-Nahum, S., Hadar, Y., Chen, Y. 2007. Physico-chemical properties of commercial compost varying in their source materials and country of origin. *Soil Biology & Biochemistry* 39, 1263-1276.