

Rehabilitación de suelos contaminados con mercurio: estrategias aplicables en el área de Almadén

R. Millán¹, R.O. Carpena², T. Schmid, M.J. Sierra³, E. Moreno, J. Peñalosa⁴, R. Gamarra⁵, E. Esteban⁶

(1) CIEMAT-Dpto. Medio Ambiente. Grupo de Conservación y recuperación de suelos. Avda. Complutense 22. E-28040. Madrid.

(2) UAM-Dpto. de Química Agrícola. Campus de Cantoblanco. E-28049, Madrid.

(3) CIEMAT-Dpto. Medio Ambiente. Grupo de Conservación y recuperación de suelos. Avda. Complutense 22. E-28040. Madrid.

(4) UAM-Dpto. de Química Agrícola. Campus de Cantoblanco. E-28049, Madrid.

(5) UAM-Dpto. de Biología (Botánica). Campus de Cantoblanco. E-28049, Madrid.

(6) UAM-Dpto. de Química Agrícola. Campus de Cantoblanco. E-28049, Madrid.

Rehabilitación de suelos contaminados con mercurio: estrategias aplicables en la zona minera de Almadén. La comarca de Almadén ha estado marcada por la actividad minera de extracción de Hg desde hace más de 2.000 años. En la actualidad, el cierre de las minas plantea la necesidad de un cambio de uso del suelo para mantener la actividad económica de la zona. Este trabajo resume las distintas estrategias estudiadas para la rehabilitación y propuesta de usos alternativos de los suelos contaminados. En primer lugar, se realizó una caracterización edafológica y botánica de la zona, un estudio del grado de contaminación de los suelos, y una selección de especies silvestres con resistencia al mercurio. En paralelo, se realizaron ensayos en condiciones controladas con suelos procedentes de la zona, utilizando también especies agrícolas. Tanto en las plantas silvestres como en las cultivadas se evaluó el factor de transferencia de Hg. Para definir el grado de contaminación, fue necesario evaluar la biodisponibilidad de Hg en los suelos. En cuanto a los cultivos, tanto la berenjena de Almagro como varias legumbres (lenteja, garbanzo, altramuza) pueden consumirse sin alcanzar los niveles máximos permitidos de ingesta de Hg. Entre las forrajeras, el consumo de veza en verde no se recomienda por alcanzarse valores próximos al límite máximo admitido, aunque la semilla sí podría ser comercializada. Estos cultivos pueden resultar una alternativa económica viable en la zona. Las especies vegetales silvestres estudiadas pueden emplearse en fitoestabilización y revegetación de las zonas más degradadas de Almadén, aunque no en fitoextracción.

Palabras clave: fitorremediación, mercurio, cultivos seguros, usos alternativos de suelo contaminado, transferencia suelo-planta

Rehabilitation of mercury contaminated soils: strategies for the Almaden area. Hg mining has been carried out in the Almaden area for more than 2,000 years. The recent abandonment of mining activities makes it necessary to find alternative uses for the soil and provide profitable activities for local populations. The evaluation of different strategies for soil rehabilitation, and the identification of alternative uses for the soil are the objective of this work. The first step in our study was the soil and plant characterization of the area, followed by the study of the contamination levels, and the selection of wild plant species showing some degree of Hg resistance. As an alternative use for the soils, some agricultural plant species were grown under controlled conditions on Almaden soil. Hg transfer from soil to plant was evaluated in wild and cultivated plants. Soil contamination level was better described by the bioavailable fraction than by total Hg. Regarding agricultural plant species, eggplant, lentil, lupin and chickpea can be safely cultivated on Almaden soils, and they can be used in human diet with low potential risk for the health. Vetch can not be recommended as green fodder, as it reaches Hg concentrations close to the maximum allowable limit, but the seeds can be commercialized. These crops can be proposed as an alternative soil use in Almaden. Some of the wild plants collected in the Almaden can be used in phytostabilization or revegetation of degraded areas, but they can not be recommended for phytoextraction.

Key words: phytoremediation, mercury, safe crops, soil-plant system, alternative use of contaminated soil, soil-plant transfer.

Introducción

Los metales pesados están presentes en el suelo como componentes naturales del mismo o como consecuencia de la actividad del hombre. Entre los impactos más graves que sufre el suelo se puede destacar la contaminación por metales pesados, por su lenta y difícil restauración. Uno de los metales pesados más tóxicos que se conocen es el mercurio, considerado un contaminante a escala global. Este elemento ha dejado huella en la historia de la humanidad, con casos muy conocidos como el de Minamata, el envenenamiento por mercurio orgánico en Iraq, o la exposición a metil-mercurio en el Amazonas, recogidos por Gochfeld (2003).

La mayoría de las aproximaciones convencionales no han proporcionado soluciones definitivas a este importante problema medioambiental. La restauración ambiental implica la selección, justificación, optimización y aplicación de las técnicas adecuadas para la recuperación de áreas afectadas. Parte de estas metodologías (fitotecnologías) consideran el uso de las plantas, dado su bajo impacto medioambiental. La fitorremediación o fitorrecuperación del suelo se basa en el uso de plantas, enmiendas al suelo y técnicas agronómicas para retener los contaminantes del suelo, disminuir o eliminar su toxicidad (Chaney *et al.*, 1997; Iskandar y Adriano, 1997). En relación con los metales tóxicos, se diferencia entre la fitoextracción (uso de plantas para extraer los contaminantes del suelo y transportarlos a su parte aérea, eliminándolos del suelo), y la fitoestabilización (uso de plantas para limitar la biodisponibilidad de los metales tóxicos del suelo, reduciendo su movilidad). En ambos casos, las plantas deben ser capaces de vivir en suelos con alta concentración de Hg.

En este contexto, es necesario conocer mejor el comportamiento del mercurio en el medio ambiente para poder evaluar las fitotecnologías que resulten aplicables. Esto incluye el estudio del comportamiento del mercurio en el suelo y su transferencia a la planta, así como de los factores que permiten modificar y evaluar esta transferencia. Igualmente, requiere la selección de especies vegetales que puedan utilizarse en la zona de estudio. En este marco general se encuadran las investigaciones llevadas a cabo en el escenario del área minera de Almadén, siguiendo cuatro estrategias de estudio: 1) *Experimentos en laboratorio*, como el estudio de los parámetros del suelo que influyen la disponibilidad del mercurio para la planta; la especiación química del mercurio en el suelo y la determinación de la concentración de los macro- y micronutrientes del suelo en relación con la evolución del mercurio durante el crecimiento vegetal. 2) *Estudios en condiciones controladas (invernadero)*, donde se abordan experiencias tanto en hidroponía como con cultivos agrícolas y flora natural sobre suelo procedente del área de estudio. 3) *Ensayos-piloto en lisímetros*, con condiciones próximas a la realidad y que permiten un seguimiento de los parámetros edáficos y una cuantificación de la transferencia a la planta. 4) *Estudios in situ en la comarca de Almadén*, donde se realiza el estudio florístico y de la estrategia de las diferentes especies respecto al mercurio, el seguimiento de las fluctuaciones de los parámetros edáficos más relevantes, y el estudio de cultivos agrícolas propios de la zona. La información obtenida permitirá proponer estrategias de restauración para esta área.

La comarca minera de Almadén

El distrito minero de Almadén (Ciudad Real, España) constituye la concentración natural de mercurio más grande del mundo, ocupando un área de alrededor de 300 km². La producción de mercurio en Almadén representa más del 30% (285.000 t) del total conocido de mercurio producido en el mundo. El distrito está constituido por series de depósitos de mercurio mineral, predominantemente en forma de cinabrio (HgS), también está presente el mercurio elemental (Hg⁰) que en algunos depósitos es localmente abundante. Parte de la contaminación actual de la zona proviene de la deposición de mercurio atmosférico, normal en zonas mineras, y consecuencia de la actividad de explotación y transformación llevada a cabo durante siglos. La extracción de mercurio se ha llevado a cabo durante más de 2.000 años, la referencia más antigua es de Plinio el viejo, que describe la zona como el sitio con el mejor bermellón para tinter las togas de los más poderosos romanos. La principal mina del distrito, la de Almadén, ha tenido actividad desde aquellos tiempos hasta la actualidad. Su actividad minera cesó en mayo de 2002, existiendo cantidades significativas de mercurio almacenadas anteriormente. Otras actividades relacionadas fueron suspendidas en Almadén en febrero de 2004.

Debido al gran tamaño del distrito minero, las emisiones de mercurio que se han ido produciendo y a la dispersión por los ríos, este área puede ser considerada como una de las más afectadas por mercurio en el mundo, tanto por su origen natural, como por la contaminación antropogénica. Este problema ha sido previamente estudiado por Ferrara *et al.*, (1998), Berzas Nevado *et al.*, (2003), Higuera *et al.*, (2003) y Gray *et al.*, (2004).

El clima de la región de Almadén es mediterráneo con inviernos húmedos y fríos, y veranos cálidos y secos. El distrito minero de Almadén está morfológicamente caracterizado por estrechos valles WNW (~ 5 km de ancho) y por montañas. La altitud de la zona está entre 200 y 1.000 m sobre el nivel del mar.

Comportamiento del mercurio en sistema suelo-planta

El mercurio aparece de forma natural en el suelo como Hg^{2+} , fundamentalmente por depósito atmosférico, por meteorización del sustrato litológico y, en menor medida, por la descomposición de la vegetación. En condiciones normales, el mercurio puede encontrarse en los suelos en cualquiera de sus tres estados de oxidación, Hg^0 , Hg^+ , y Hg^{2+} . La movilidad del mercurio en suelos queda determinada por la solubilidad de las especies químicas $\text{Hg}(\text{OH})_2$, HgS , y Hg^0 . Por encima de pH 5 y en condiciones moderadamente oxidantes, la especie de mercurio en solución que predomina es el Hg^0 , aunque su solubilidad es relativamente baja (56 ng/g). En condiciones ligeramente reductoras, el Hg^0 precipita como sulfuro, HgS , cuya solubilidad es aún menor (0,002 ng/g). El Hg alcanza sus mayores solubilidades en ambientes muy bien oxigenados (350 a 400 mV) (Adriano, 2001; Summers y Silver, 1978). Una vez depositado en el suelo, el mercurio es retenido por la materia orgánica y por los óxidos de hierro y manganeso, principalmente, y por los minerales de arcilla (Desauziers *et al.*, 1997). Debido a su gran superficie específica y a su reactividad, los minerales de arcilla juegan un papel muy importante en la inmovilización del mercurio, especialmente en los suelos neutros y/o pobres en materia orgánica. El Hg se encuentra fuertemente unido a los constituyentes del suelo como consecuencia de su afinidad por los grupos funcionales que contienen azufre y que se encuentran en las moléculas orgánicas de los horizontes superiores del suelo, ricos en materia orgánica. Los enlaces fuertes dan como resultado baja disponibilidad y movilidad del Hg en el suelo, de forma que normalmente sólo se encuentran en la solución del suelo concentraciones traza de Hg, y como especies dominantes de Hg (II) en solución, los complejos sin carga. Sin embargo, bajo ciertas condiciones puede producirse movilización, allí donde tanto el pH como las concentraciones de cloruros en la solución del suelo sean favorables para la formación de complejos (Frimmel *et al.*, 1983; Behra, 1986). En suelos ácidos (pH 3 a 5), los complejos con materia orgánica soluble tienen también una contribución elevada a la solubilidad del Hg, aunque en suelos neutros o con poca materia orgánica, la solubilidad estaría dominada por los óxidos de Fe y los minerales de la arcilla, y la movilidad de Hg aumentará al disminuir el pH. Las plantas absorben únicamente la fracción de Hg que se encuentra en disolución (fracción soluble), aunque ésta se encuentra en equilibrio con la fracción de Hg retenida en los constituyentes del suelo con menor fuerza.

Las anomalías geoquímicas naturales que dan lugar a las grandes zonas mineras, junto a la presencia de grandes cantidades de metales pesados en asociación paragenética, frecuentemente sostienen especies vegetales características, que prosperan en estos ambientes enriquecidos en metales pesados mediante estrategias de adaptación. Éstas pueden incluir la acumulación de dichos metales en concentraciones inusualmente altas, a niveles que exceden los niveles de concentración en el suelo. Esta particularidad de las especies vegetales tolerantes a los metales pesados y acumuladoras puede explotarse para la recuperación de suelos contaminados antrópicamente con metales pesados, siempre y cuando sea posible la identificación de las especies vegetales adecuadas y si éstas producen cantidades suficientes de biomasa.

Caracterización florística de la zona y distribución del mercurio en suelos y plantas

El estudio de la contaminación por Hg en el área de Almadén se ha llevado a cabo en parcelas experimentales seleccionadas atendiendo a dos criterios principales: tener un diferente grado de impacto de las actividades mineras, y la composición de la flora y suelo de las mismas. Con ambos criterios se ha conseguido una representación de la zona minera de Almadén así como de su área de influencia (**Fig. 1**). Sus características son las siguientes:

Parcela 1: Almadén, río Valdeazogues. A lo largo del río se encuentran comunidades de ribera dominadas principalmente por *Nerium oleander* y *Flueggea tinctoria*. En contacto con el curso fluvial aparecen esporádicamente pequeñas masas de *Typha domingensis* y de *Phragmites australis*, que debido a la existencia de rizomas, aumentan su extensión paulatinamente, aprovechando los espacios aclarados tras la eliminación de otros higrófitos. La degradación de las formaciones originales ha derivado también en el cultivo de pequeñas plantaciones de *Eucalyptus camaldulensis*.

Parcela 2: Almadén, fuente del Jardinillo. En las laderas de los montes, junto a restos del encinar silicícola (*Pyro bourgaeanae-Quercetum rotundifoliae* Rivas Martínez y Loidi 1999), se encuentran formaciones de matorral pertenecientes a la comunidad *Genisto hirsutae-Cistetum ladaniferi* (**Fig. 2**), constituida por un jaral denso representado por *Cistus ladanifer*, *C. monspeliensis*, *C. crispus*, *C. salviifolius* y *C. albidus*, acompañado por otras matas y arbustos propios de la formación climática del encinar.

Parcela 3: Almadén, vertiente sur de la Sierra de Cordoneros, dehesa de Castilseras. Prados característicos de la alianza *Hordeion* sometidos a influencia de ganado, entre setos formados principalmente por *Quercus ilex* subsp. *ballota*. Están constituidos por especies cuya dominancia varía a lo largo de la primavera; existe una amplia diversidad de hemicriptófitos y algunos terófitos, con una elevada representación de individuos.

Parcela 4: Almadenejos, carretera a Gargantiel. Dehesa de encinas empleada con fines agrícolas que ha sido abandonada y muestra una sucesión de especies ligadas a condiciones más o menos frescas. En las situaciones con más humedad domina la formación de *Phalaris coerulescens*, junto a otras gramíneas como *Aegilops triuncialis*. En situaciones más

ruderales, menos húmedas, aparecen *Eruca vesicaria*, *Diplotaxis sp.*, etc. En una parte de esta parcela que se sometió a una reforestación con *Eucalyptus camaldulensis* se observa una vegetación ruderal semejante, con *Chrozophora obliqua*.

Parcela 5: Almadenejos. Parcela formada por los desechos de antiguas actividades mineras y siderúrgicas, actualmente está sometida a la presión de ganado porcino. Está dominada prácticamente en su totalidad por *Marrubium vulgare* (Figura 3), a la que acompañan otras especies nitrófilas como *Urtica urens* y *Cynoglossum cheirifolium*. Formación completamente nitrófila, típica de la alianza *Onopordion nervosii*.

Parcela 6: Almadén, mina de mercurio, ladera S Cerro Buitrones. Laderas de fuerte pendiente dominadas por la especie *Rumex induratus* que ejerce un efecto de estabilización del suelo mediante la fijación por medio de su sistema radicular evitando la erosión. Solamente en zonas con sustrato más fijo se asientan especies silicícolas como *Cistus crispus* y *Cytisus scoparius*. Sin embargo, en aquellas zonas con suelo más erosionable, solamente aparecen terófitos como *Rumex bucephalophorus*. El terreno está sometido a fuerte presión ganadera.

Parcela 7: Almadén, Sierra de Cordoneros, dehesa de Castilseras. Pastizales sometidos a pastoreo, en dehesas de encinar muy aclarado con presencia de *Retama sphaerocarpa*, dominados por terófitos y hemicriptófitos de bajo porte, de carácter heliófilo, como *Spergularia rubra*, *Plantago lagopus*, *Chamaemelum mixtum*, *Diplotaxis catholica*, *Anacyclus clavatus*.

Parcela 8: Almadenejos, mina de El Entredicho, zona alta. La parcela tiene taludes pertenecientes a antiguas roturaciones de la mina, se aprecian restos de la comunidad *Pyro bourgaeanae-Quercetum rotundifoliae* (Rivas Martínez y Loidi 1999), acompañado de un matorral esclerófilo con *Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera*, *Cistus ladanifer*, *Cistus monspeliensis*. En zonas aclaradas con afloramientos rocosos aparecen diversos hemicriptófitos como *Erysimum lagascae*.

Parcela 9: Almadenejos, mina de El Entredicho, zona basal. En los taludes más basales encontramos especies colonizadoras como *Bituminaria bituminosa*, *Rumex induratus* (Figura 4), *Dittrichia viscosa*, y en zonas rezumantes o donde se acumula el agua encontramos pequeñas formaciones de *Typha domingensis* y de *Tamarix africana*.

Parcela 10: Almadén, mina de Las Cuevas. Encinar perteneciente a la asociación *Pyro bourgaeanae-Quercetum rotundifoliae* (Rivas Martínez y Loidi 1999), con zonas aclaradas en las que se ha asentado un matorral formado principalmente por *Cistus ladanifer*, *Cistus monspeliensis* y *Cytisus striatus*.

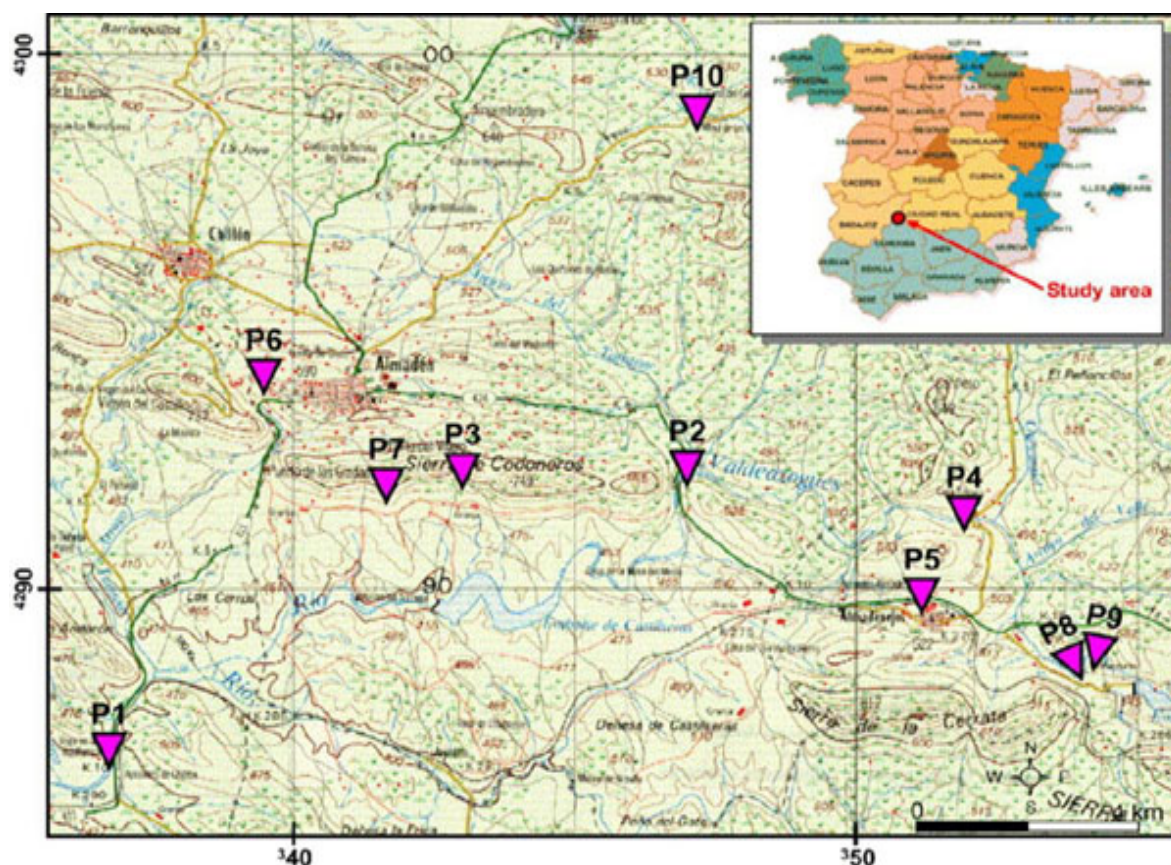


Figura 1. Situación de las parcelas experimentales en la comarca de Almadén.

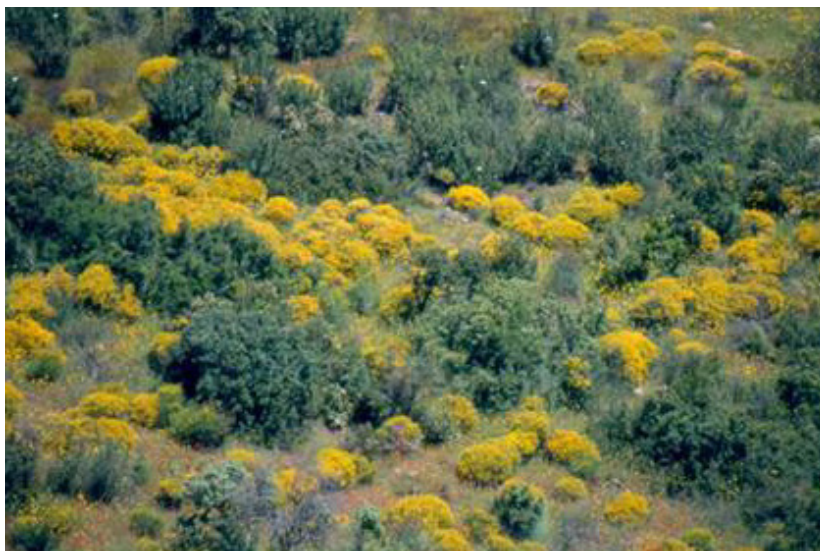


Figura 2. Matorral de la comunidad *Genisto-Cistetum* en la mina El Entredicho.

En las parcelas se cogieron muestras de vegetación junto con el suelo de la zona radicular de las mismas (Millán *et al.*, 2006). Se cuantificó el contenido en mercurio de la parte aérea de las plantas para evaluar la transferencia suelo-planta. En suelos, se cuantificó el contenido total de mercurio y su fracción más fácilmente disponible para la planta, correspondiendo ésta a la suma de la fracción soluble e intercambiable, según el procedimiento de extracción secuencial desarrollado por Sánchez *et al.*, (2005).

La concentración de mercurio (T=total, S=soluble e I=intercambiable) en los suelos de las parcelas se recoge en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Concentración de Hg en suelos del área de Almadén.

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
[Hg] T mg/kg	146 ±13	503 ±0,43	12,8 ±1,2	21,3 ±1,1	550 ±58	1710 ±43	5,53 ±0,49	69,8 ±6,8	122,4 ±7,5	118 ±12
[Hg] S mg/kg	0.0227 ±0.0022	0.0417 ±0.0037	0.0323 ±0.0017	0.0850 ±0.005	1.040 ±0.033	0.609 ±0.013	0.0453 ±0.0058	0.033 ±0.021	<0.02	0.0210 ±0.0025
[Hg] I mg/kg	0.360 ±0.026	0.285 ±0.019	0.274 ±0.024	0.281 ±0.024	4.4 ±2.3	7.3 ±1.3	0.182 ±0.012	0.254 ±0.008	1.20 ±0.10	0.149 ±0.052

Los valores más altos de concentraciones de mercurio corresponden a la zona de mayor influencia antropogénica y de actividades mineras. La fracción más fácilmente disponible representa un pequeño porcentaje del total de elemento presente en el suelo, y pone de manifiesto que, en algunas ocasiones (P2 y P8, por ejemplo), la evaluación del Hg total no sería indicativa del grado real de exposición de la planta a Hg.

La **Tabla 2** muestra la comparación entre el factor de transferencia teniendo en cuenta el mercurio total en suelos (TFt) y teniendo en cuenta la fracción más fácilmente disponible (TFa). Como puede apreciarse, las parcelas con mayor contenido en mercurio total muestran los valores de mayor concentración de mercurio en planta. Esto pone de manifiesto que, pese a encontrarse la mayor parte del Hg en formas no disponibles, pueden alcanzarse concentraciones altas en plantas. Asimismo, la misma especie recogida en parcelas diferentes muestra valores diferentes para ambos factores de transferencia calculados. Queda así patente cómo plantas con niveles altos de Hg cultivadas en suelos con niveles altos de Hg total presentan TFt menores que la misma especie con niveles más bajos de Hg, mientras que el TFa refleja los niveles de Hg en la parte aérea (por ejemplo, *Rumex* en P6 y P9; o *C. ladanifer* en P2 y P9).

Tabla 2. Comparación de valores de transferencia según la fracción de mercurio que se considere: mercurio total en suelo (TFt) y mercurio fácilmente disponible (TFa).

Parcela	Especie vegetal	[Hg] parte aérea mg/kg	TFt	TFa
P2	<i>Asparagus acutifolius</i>	0,67 ± 0,06	0,133 ± 0,016	2,05 ± 0,22
	<i>Cistus ladanifer</i>	0,79 ± 0,002	0,157 ± 0,014	2,42 ± 0,15
	<i>Cistus monspeliensis</i>	0,87 ± 0,07	0,173 ± 0,020	2,66 ± 0,27
P6	<i>Rumex induratus</i>	22,7 ± 2,2	0,0133 ± 0,0003	2,88 ± 0,47
P9	<i>Cistus ladanifer</i>	5,12 ± 0,29	0,042 ± 0,003	4,24 ± 0,44
	<i>Rumex induratus</i>	15,48 ± 1,23	0,126 ± 0,013	12,8 ± 1,5

La fracción “biodisponible” resulta mucho más útil para evaluar la transferencia suelo-planta del Hg o el riesgo ecotoxicológico, ya que mide la capacidad que tiene la planta de absorber el Hg de las fracciones realmente a su disposición. No obstante, aun existe cierta controversia sobre qué fracciones han de ser consideradas y los métodos para extraerlas.

En las parcelas 5 y 9 se realizó un estudio más detallado, recogiendo ejemplares de *Marrubium vulgare* y *Rumex induratus* (Figs. 3 y 4), junto con sus suelos respectivos (Moreno *et al.*, 2006). Ambas especies se desarrollan adecuadamente en suelos con altas concentraciones de Hg disponible (175 y 6,7 mg Hg/kg suelo respectivamente, evaluada mediante extracción con bicarbonato amónico y DTPA según Lucena *et al.*, 1992). La concentración de Hg en planta es superior en raíz (67,2 mg/kg materia seca) que en parte aérea (23 mg/kg ms) para *M. vulgare*, mientras que es muy similar entre raíz (8,3 mg/kg ms) y parte aérea (7,3 mg/kg ms) para *R. induratus*. Su capacidad de acumulación de Hg se evaluó teniendo en cuenta tanto la concentración total de Hg en el suelo como la concentración de Hg disponible. Como se observa en la **Tabla 3**, el factor de transferencia, o factor de bioacumulación, es muy superior cuando se tiene en cuenta la concentración de elemento disponible.



Figura 3. *Marrubium vulgare*.



Figura 4. Ladera de escombrera de la mina de Almadén con *Rumex induratus*. Detalle de plantas.

Tabla 3. Factor de bioacumulación para *Rumex induratus* y *Marrubium vulgare*.

Factor de bioacumulación	<i>Rumex induratus</i>		<i>Marrubium vulgare</i>	
	Raíz	Parte aérea	Raíz	Parte aérea
Concentraciones de Hg				
Hg tejido/ Hg disponible	1231	1096	131	384
Hg tejido/Hg total	0,067	0,060	0,122	0,042

La capacidad de acumulación de Hg de estas especies las cualifica para su uso en revegetación y/o fitoestabilización de suelos contaminados con Hg. Ninguna de las especies se comporta como acumuladora. *R. induratus*, por sus especiales características como colonizadora, podría ser utilizada también en revegetación no solo de suelos, sino de zonas como escombreras, taludes, etc.

Cultivos en condiciones controladas

Invernadero

Se realizaron cultivos hidropónicos, con perlita como sustrato, con varias especies vegetales que se encuentran presentes en la comarca de Almadén: *Rumex induratus*, *Marrubium vulgare*, *Tamarix gallica*, *Rosmarinus officinalis* y *Pistacia lentiscus* (Moreno *et al.*, 2005, 2006 y 2007). La adición de Hg redujo la biomasa vegetal a elevadas concentraciones en disolución (50-100 mM) para todas las especies, aunque las menos afectadas fueron *R. induratus* y *M. vulgare*. El Hg se acumuló principalmente en raíz, aunque el incremento de la dosis de Hg aportada en disolución produjo un aumento de los niveles en raíz y hoja. Entre los indicadores de las alteraciones metabólicas producidas por el Hg, las clorofilas reflejaron mejor los efectos tóxicos del Hg, sufriendo una fuerte reducción con la dosis de Hg. También se detectaron síntomas de estrés oxidativo, excepto para *R. induratus*. Los estudios hidropónicos ponen de manifiesto que, además de *R. induratus* y *M. vulgare*, el resto de las especies podrían también utilizarse en fitorrecuperación de suelos contaminados con Hg. *Rosmarinus officinalis* es la especie más sensible, por lo que no debería utilizarse en suelos con elevadas concentraciones de Hg disponible.

Paralelamente, se llevaron a cabo ensayos sobre suelo agrícola traído de Almadén (parcela 7) realizando ciclos completos de garbanzo, lenteja, veza y berenjena de Almagro, cultivos utilizados en la zona o que se intentan implantar como alternativa económica. En ninguno de ellos se observaron síntomas visuales de toxicidad. La concentración de Hg en raíz fue mayor que en parte aérea para todas las especies, aunque en parte aérea se incrementó en el periodo de maduración del fruto para garbanzo, lenteja pero no para veza o berenjena. Su cultivo, por tanto, sería posible en estas zonas, aunque para su comercialización es necesario evaluar la transferencia de Hg al órgano consumido en cada caso. El factor de transferencia es, en todos los casos, inferior al de las plantas silvestres, por lo que el uso de estos cultivos en fitotecnologías sería muy limitado.

Lisímetros

Los lisímetros utilizados en este experimento estaban formados por un monolito de suelo de aproximadamente un metro cúbico incluido en una contención metálica, instrumentado para la obtención de los parámetros físico-químicos del suelo a lo largo del crecimiento del cultivo. Los lisímetros son la aproximación más real a las condiciones de campo, por el volumen de suelo inalterado (respetando la composición y horizontes edáficos originales). Esto permitió, por un lado, reproducir las condiciones de la zona, y por otro, realizar ensayos preliminares de técnicas de restauración, y evaluarlas antes de su uso definitivo en la zona afectada. Las condiciones ombrotérmicas se reprodujeron, manteniendo una política de riegos controlados en consonancia con las precipitaciones registradas en la zona de ensayo (Millán *et al.*, 2005).

La instrumentación fue instalada en cuatro lisímetros e incluía sondas humidimétricas, sensores de temperatura, cañas tensiométricas, electrodos de pH y Eh, así como captadores de cerámica porosa para la extracción del agua del suelo. En cada lisímetro se introdujeron las sondas a 15, 25 y 50 cm de profundidad. El seguimiento y almacenamiento de la información se realizó con un *datalogger* en periodos de 30 minutos para cada sonda. El potencial mátrico del agua del suelo, durante el periodo de tiempo de mayor contenido en agua en el medio, presentó valores cercanos a cero. El potencial mátrico aumentó según el agua fue absorbida por los cultivos y la evapotranspiración superó al conjunto de precipitación y riegos. Se apreció un ligero retraso de los valores observados en el horizonte superior, más permeable respecto a los inferiores, donde hay un mayor contenido de arcilla. El potencial redox permaneció prácticamente constante, mostrando los valores mayores en la zona superior más aireada y los menores en los horizontes inferiores argílicos. Los valores de pH mostraron una variación a lo largo del ciclo de los cultivos que llegó a suponer una diferencia de una unidad de pH. La humedad volumétrica mostró una fuerte respuesta en la zona superficial del suelo, más permeable, mientras que las capas más profundas mostraron una menor permeabilidad, asociada al incremento en el contenido en arcilla y la influencia del desarrollo de los cultivos.

a sondas humidimétricas, sensores de temperatura, cañas tensiométricas, electrodos de pH y Eh, así como captadores de cerámica porosa para la extracción del agua del suelo. En cada lisímetro se introdujeron las sondas a 15, 25 y siendo absorbida por los cultivos y la evapotranspiración superó al conjunto de precipitación y riegos. Se apreció un ligero retraso de los valores observados en el horizonte superior, más permeable respecto a los inferiores, donde hay un mayor contenido de arcilla. El potencial redox permaneció prácticamente constante, mostrando los valores mayores en la zona superior más aireada y los menores en los horizontes inferiores argílicos. Los valores de pH mostraron una variación a lo largo del ciclo de los cultivos que llegó a suponer una diferencia de una unidad de pH. La humedad volumétrica mostró una fuerte respuesta en la zona superficial del suelo, más permeable, mientras que las capas más profundas mostraron una menor permeabilidad, asociada al incremento en el contenido en arcilla y la influencia del desarrollo de los cultivos.

En el periodo 2002-2005 se recogieron tres cosechas consecutivas, siendo los datos mas significativos los siguientes:

- **Cosecha 2002-2003:** Los cultivos fueron: Cebada (lisímetro L1 fertilizado y L2 no fertilizado), Altramuz (lisímetro L3) y Lenteja (lisímetro L5). El lisímetro L4 está instrumentado pero no cultivado para evaluar los cambios en el suelo sin la influencia de la vegetación. Los resultados muestran que, en todos los cultivos, la concentración de mercurio era mayor en raíz, seguido de tallo y hojas. La menor concentración de Hg se encontró en el fruto. La cebada fertilizada produjo el valor más alto de extracción de mercurio, debido una producción elevada de biomasa, sobre todo de paja, donde la concentración de mercurio fue mayor. También se obtuvieron buenos resultados para lenteja. No obstante, ningún cultivo parece indicado para su uso en fitoextracción.
- **Cosecha 2003-2004:** Lenteja (L1), Altramuz (L2), Cebada (L3) y Veza (L5). En todos se aplicaron técnicas agronómicas convencionales. Para todos los cultivos, la menor concentración de mercurio se localizó en grano, excepto en la veza, donde la concentración en la vaina fue también baja. La capacidad acumuladora de Hg, en orden decreciente sería: Lenteja > Veza ≥ Cebada > Altramuz.
- **Cosecha 2004-2005:** Cultivos: Colza (L1), lenteja (L2), veza (L3) y altramuz (L5). Se mantuvieron las tendencias de años precedentes. La mayor concentración de mercurio se dió en raíz, y la menor en fruto.

Transferencia de mercurio a productos agrícolas

La distribución de mercurio en los productos agroalimentarios es de especial importancia en un estudio orientado a poner las bases científicas para el desarrollo de estrategias de gestión y restauración sobre situaciones reales. La directa implicación en la cadena alimentaria de tales productos, y la circunstancia de que el Hg es tóxico en concentraciones muy bajas ($50 \mu\text{g kg}^{-1}$ es la concentración estimada como máxima admisible de Hg en los alimentos de origen vegetal), hacen necesaria la evaluación de la concentración de Hg en los órganos (hojas, frutos...) que pueden emplearse para consumo.

Para los productos alimenticios se ha aplicado la directiva “WHO-IPCS: Food Additives Series 52. Safety evaluation of certain food additives and contaminants” (OMS-WHO, 2004). Según los cálculos efectuados, teniendo en cuenta los niveles máximos de ingesta de mercurio permitidos, y para una persona tipo de 60 kg de peso con una dieta equilibrada, podrían consumirse hasta $42,6 \mu\text{g/día}$ de Hg total. En la **Tabla 4** se evalúan las cantidades máximas diarias de los diversos cultivos ensayados.

Tabla 4. Cantidad máxima de alimento que podría consumirse diariamente sin superar la ingesta diaria tolerable propuesta por la OMS y recomendación de consumo.

Cultivo	Cantidad máxima diaria (g producto/día)	Recomendación de consumo
Berenjena de Almagro (con pedúnculo y cáliz)	224,0	Si
Berenjena de Almagro (sin pedúnculo y cáliz)	651,7	Si
Altramuz	980	Si
Garbanzo	6.984	Si
Lenteja	6.615	Si

En el caso de la berenjena (tipo Almagro, usada para encurtidos), su consumo puede realizarse de dos formas, con o sin pedúnculo y cáliz. Ambos valores están muy por encima de lo que sería habitual en este producto al ser ingerido de forma ocasional y como aperitivo, por lo que puede consumirse.

Para otros productos estudiados, el consumo humano de garbanzo y lenteja estaría permitido por la legislación, considerando estos productos como la única fuente de Hg en la dieta. Para ambos cultivos los valores de la tabla 4 equivaldrían a consumir más de 26 platos al día de estas legumbres.

En el caso de la veza, se han tenido en cuenta las recomendaciones incluidas en la directiva europea “Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed”. El límite propuesto para el mercurio es de $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$. Según esto, el consumo animal de grano de veza como pienso o para su mezcla como alpiste para pájaros estaría permitido, pero su consumo como forraje, utilizándose la planta entera, no puede recomendarse, pues los resultados obtenidos han dado valores tanto por debajo como por encima del límite recomendado.

En todos los cultivos, el factor de transferencia es inferior al de las especies silvestres, siendo el factor de concentración del Hg del suelo en el grano o fruto más alto para el caso de la berenjena, seguido de altramuz, veza, cebada, garbanzo y lenteja.

Conclusiones

Se ha realizado un estudio integral de las posibilidades de fitorremediación del Hg en la antigua comarca minera de Almadén. El estudio se ha llevado a cabo en parcelas experimentales seleccionadas por su diferente grado de impacto de las actividades mineras y la composición de la flora y suelo de las mismas. Se han establecido las series de vegetación: formaciones arbóreas; arbustivas; prados; pastizales; formaciones rupícolas, de taludes, ruderales y vegetación riparia. El catálogo florístico de la comarca de Almadén, atendiendo a las zonas mineras, cuenta con más de 400 especies de plantas vasculares.

Los valores más altos de concentración de mercurio se hallaron en los suelos con mayor influencia antropogénica y de actividades mineras. La fracción más fácilmente disponible representa un pequeño porcentaje del total de elemento presente en el suelo, y pone de manifiesto que, en algunas ocasiones, la determinación del Hg total no sería indicativa del grado real de exposición de la planta a Hg. El factor de transferencia respecto a la concentración total en suelo, no resulta significativo, dado que la mayor parte del mercurio está en forma de cinabrio o inmovilizado, por lo que no es fácilmente disponible para la planta. La fracción biodisponible resulta mucho más útil para ser usada en las evaluaciones de riesgo ambiental o la selección de especies para fitorremediación, puesto que mide la capacidad que tiene la planta de absorber el Hg de las fracciones realmente a su disposición.

Respecto a las especies silvestres estudiadas, la capacidad de acumulación de Hg de *Rumex induratus* y *Marrubium vulgare* las cualifica para su uso en revegetación y/o fitoestabilización de estos suelos. Ninguna de las especies se comporta como acumuladora. *R. induratus*, por sus especiales características como colonizadora, podría ser utilizada también en revegetación no sólo de suelos, si no de zonas como escombreras, taludes, etc. Las demás especies estudiadas (*Pistacia lentiscus*, *Tamarix gallica*, *Rosmarinus officinalis*) podrían también utilizarse en fitoestabilización de suelos contaminados con Hg, por su resistencia, y su capacidad de retención de dicho elemento en la raíz.

Los factores de transferencia para los cultivos son siempre menores que los de las plantas silvestres. Los cultivos de cebada, altramuza, garbanzo, lenteja y berenjena de Almagro son aptos para el consumo humano. La semilla de veza puede utilizarse como pienso. Estas especies agrícolas constituirían una alternativa viable de uso del suelo tras el fin de la actividad minera.

El trabajo realizado nos ha permitido seleccionar dos estrategias de fitorrecuperación aplicables al área de Almadén: para los suelos agrícolas, los cultivos ensayados resultan viables, y para los suelos más afectados por la actividad minera, la inmovilización del mercurio por plantas silvestres. La aplicación de estas fitotecnologías deberá ser evaluada a más largo plazo.

Referencias

- Adriano, D.C., 2001. *Trace elements in terrestrial environments. Biogeochemistry, bioavailability and risks of metals*. Chapter 11: Mercury, pp. 411-458. Ed. Springer.
- Behra, P., 1986: Migration or retention of mercury II salts when percolating through a porous medium constituted of a natural quartz sand? En: *Environmental Contamination*, 2nd Int. Conf. Amsterdam, Sept. 1986, pp. 318-320.
- Berzas Nevado J.J., García Bermejo L.F., Rodríguez Martín-Doimeadios R.C., 2003. Distribution of mercury in the aquatic environment at Almadén, Spain. *Environ. Poll.* 122: 261-271
- Chaney, R.L., Malik, M., Li, Y.M., Brown, S.L., Brewer, E.P., Angle, J.S., and Baker, A.J.M., 1997. Phytoremediation of soil metals. *Curr. Op. Biotechnol.* 8, 279-284.
- Desauziers, V., Castre, N., and Le Cloirec, P., 1997. Sorption of methylmercury by clays and mineral oxides. *Environ. Technol.* v 18, pp 1009-1018.
- EC Directive, 2002. *Directive of The European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed* 2002/32/EC.
- Ferrara, R., Maserti, B.E., Anderson, M., Edner, H., Ragnarson, P., Svanberg, S. y Hernández, A., 1998: Atmospheric mercury concentrations and fluxes in the Almadén district (Spain). *Atmospheric Environ.* Vol. 32, No. 22, pp. 3897-3904.
- Frimmel, F.H., Geywitz, J., y Velikov, B.L., 1983. En: Schuster, E, 1991: The behaviour of mercury in the soil with special emphasis on complexation and adsorption processes. A review of the literature; *Water, Air Soil Pollut.* 56:667-680.
- Gochfeld, M., 2003. Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption. *Toxicol. Environ. Safety* 56: 174-179.
- Gray J.E., Hines M.E., Higuera P.L., Adatto I., Lasorsa B.K., 2004. Mercury speciation and microbial transformations in mine wastes, stream sediments, and surface waters at the Almadén Mining District, Spain. *Environment. Sci. Technol.* 38: 4285-4292
- Higuera, P.; Oryazum, R.; Biester, H.; Lillo J. and Lorenzo, S., 2003. A first insight into mercury distribution and speciation in soils from the Almadén mining district, Spain. *J. Geochem. Explorat.* 80: 95-104.

- Iskandar, I.K. and Adriano, D.C., 1997. *Remediation of soils contaminated with metals*. Adv. Environ. Sci., Science Review, Northwood, UK. Pp. 255.
- Lucena J.J., Hernández L.E., Olmos S., Carpena Ruiz R. 1992. Valoración de métodos de extracción de Hg en suelos contaminados. *Suelo Planta* 2: 747-755.
- Millán, R., Schmid, T., Vera, R., Tallos, A., Recreo, F. and Alcalde, V., 2005. Diseño, construcción y extracción de lisímetros de experimentación. *RETAMA* nº 108, p: 52-58.
- Millán, R., Gamarra, R., Schmid, T., Sierra, M.J., Quejido, A., Sánchez, D.M., Cardona, A.I., Fernández, M., Vera, R., 2006. Mercury content in vegetation and soils of the Almadén mining area (Spain). *Sci. Total Environ.* 368: 79-87.
- Moreno-Jiménez, E., Peñalosa, J.M., Carpena-Ruiz, R.O., Esteban, E., 2005. Response of *Tamarix gallica* and *Pistacea lentiscus* to mercury and arsenic. En: Phytotechnologies to promote sustainable land use and improved food safety. Abstracts 1st Scientific Workshop. COST Action 859. pp 66-67. Pisa, Italia.
- Moreno-Jiménez, E., Gamarra, R., Carpena-Ruiz, R.O., Millán, R., Peñalosa, J.M., Esteban, E., 2006. Mercury bioaccumulation and phytotoxicity in two wild plant species of Almadén area. *Chemosphere* 63: 1969-1973.
- Moreno-Jiménez, E., Peñalosa, J.M., Esteban, E., Carpena-Ruiz, R.O. 2007. Mercury accumulation and resistance to mercury estrés in Rumex induratus and Marrubium vulgare grown on perlite. *J Plant Nutr. Soil Sci.* (en prensa).
- OMS-WHO, IPCS. 2004. *Safety evaluation of certain food additives and contaminants*. WHO Food Additives Series: 52 World Health Organization, Geneva.
- Rivas Martínez, S. y J. Loidi Arregui. 1999. Biogeography of the Iberian Peninsula. In: S. RIVAS MARTÍNEZ & al. (eds.) *Ibericum A.D. MIM. Itinera Geobotanica* 13: 49-67.
- Sánchez, D.M, Quejido, A.J., Fernández, M., Hernández, C., Schmid, T., Millán, R., Vera, R., Gonzalez, M., Aldea, M., Martín, R., Morante, R., 2005. Mercury and trace elements fractionation in Almacén soils through the application of different sequential extraction procedures. *Anal. Bioanal. Chem.* 381: 1507-1513.
- Summers, A.O., and Silver, S., 1978. Microbial Transformations of Metals. *Ann. Rev. Microbiol.* 32: 637-672.