

GT4. Recuperación de las funciones ecológicas clave que suministran servicios del ecosistema en los emplazamientos con fitogestión

Producto 4.1.

Metodología para evaluar y monitorizar procesos clave del suelo en emplazamiento fitogestionados en la región Interreg SUDOE



Carmela Monterroso (USC) y P.S. Kidd (IIAG-CSIC)



JUSTIFICACIÓN

Para comprender la naturaleza, las propiedades, la dinámica y las funciones del suelo, como parte del ecosistema, y evaluar sus cambios en respuesta a las técnicas de fitogestión aplicadas, necesitamos obtener información a través de la descripción del suelo en el campo, así como del análisis del suelo en laboratorio. Este documento describe la metodología armonizada para monitorizar los procesos clave del suelo en sitios fitogestionados en la región Interreg SUDOE (España, Portugal y Francia) en el marco del proyecto PhytoSUDOE (SOE 1/P2/E10189). Los resultados obtenidos en los casos estudiados se recogen en los entregables del GT4 y una selección de resultados se incorporan aquí a modo ilustrativo para facilitar la interpretación de la metodología utilizada.

Agradecimientos: a todos los socios participantes en el proyecto PhytoSUDOE, SOE1/P2/E10189, (IIAG-CSIC, USC, NEIKER, INRA, FCTUC, CEA, UCP-CRP, UPV/EHU, UAVR, LNEG) por su inestimable colaboración.

CONTENIDOS

I. Fitogestión y fitotecnologías: una revisión

- I.1. Fitogestión y fitotecnologías
- I.2. Opciones de fitogestión
- I.3. Ventajas e inconvenientes
- I.4. Estado actual
- I.5 Marco legal y regulador

II. Medida de las funciones del suelo y servicios del ecosistema: Indicadores de calidad del suelo

- II.1. Funciones del suelo y servicios del ecosistema
- II.2. Recuperación de las funciones del suelo por fitogestión de sitios degradados
- II.3. Selección de indicadores de calidad del suelo
- II.4. La evaluación de la fitogestión en la región Interreg SUDOE

III. Guía simplificada para la descripción del suelo y toma de muestras de suelo

- III.1. Descripción del suelo en el campo
- III.2. Toma de muestras del suelo en parcelas experimentales

IV. Indicadores de calidad del suelo en los emplazamientos degradados con fitogestión

- IV.1 Propiedades físico-químicas generales
- IV.2. Dinámica de la material orgánica del suelo
- IV.3. Fertilidad del suelo y ciclado de nutrientes
- IV.4. Biodisponibilidad y fraccionamiento de elementos traza
- IV.5. Propiedades físicas del suelo
- IV.6. La disolución del suelo: retención de agua y filtración

V. Referencias

I. Fitogestión y fitotecnologías: una revisión

I.1. Fitogestión y fitotecnologías

Los metal(loid)es (elementos traza, TE), combustibles (p. ej., el diesel) y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) se encuentran entre los contaminantes más ampliamente extendidos que afectan los suelos europeos (Panagos et al., 2013; Van Liedekerke et al., 2014) y también son los más vigilados por la legislación. Los xenobióticos, como los compuestos organoclorados, paraquat, glifosato y otros similares y sus derivados, probablemente también estén sujetos a una contaminación difusa generalizada. Actividades como la minería, metalurgia, electrónica, agricultura y el uso de combustibles fósiles descargan una cantidad considerable de contaminantes metálicos en los suelos, mientras que los derrames accidentales de productos derivados del petróleo utilizados para el transporte (típicamente combustibles de tipo diesel) son las principales causas de contaminación por compuestos orgánicos (Barrutia et al., 2011). La contaminación del suelo suele ser compleja ya que estos contaminantes frecuentemente aparecen simultáneamente (Agnello et al., 2016).

Durante las últimas décadas, se han desarrollado distintas alternativas "blandas" de rehabilitación de suelos (GRO por sus siglas en inglés *Gentle soil Remediation Options*) para (fito)gestionar suelos contaminados (Kidd et al., 2015; Vangronsveld et al., 2009; Mench et al., 2009, 2010, 2018). Las opciones GRO incluyen la estabilización *in situ* ("inactivación") y alternativas basadas en el uso de vegetación ("fitorremediación"). Los métodos convencionales de corrección se basan en técnicas de ingeniería civil (por ejemplo, encapsulación, vitrificación, lavado de suelos, etc.) que tienen un alto impacto ambiental (destruyendo la estructura y función del suelo) y un elevado coste. Las estrategias GRO ofrecen alternativas menos invasivas, más rentables y más sostenibles.

La fitorremediación fue propuesta originalmente (a principios de la década de 1990) como un conjunto de métodos basados en uso plantas verdes, para remediar entornos contaminados, alternativos a las técnicas convencionales basadas en ingeniería civil. En el caso de los contaminantes orgánicos, las plantas y sus microorganismos asociados se usan para degradar los contaminantes a metabolitos no tóxicos, ya sea dentro de los tejidos de la planta (fitodegradación) o en la interfaz raíz-suelo o rizosfera de la planta (gracias a la actividad microbiana o la liberación de enzimas por las plantas: rizoremediación). En sitios contaminados con ET, el objetivo de las GRO es reducir la fracción lábil ("biodisponible") y/o el contenido total de metal(loid)es en el suelo, a través de su absorción y acumulación en partes cosechables de las plantas (por ejemplo, fitoextracción), o promover la inactivación *in situ* de TE mediante el uso combinado de plantas excluidoras de TE y enmiendas del suelo (p.ej. fitoestabilización).

Ambas estrategias han sido objeto de amplia discusión por sus limitaciones intrínsecas. Por ejemplo, necesitan un periodo prolongado de tiempo para extraer de manera efectiva el metal(loid)e en lugares con elevada contaminación (aunque se puede superar si se considera la "eliminación de contaminantes biodisponible"). Como resultado, evolucionó el concepto de fitogestión, que combina la gestión sostenible del sitio con las opciones *blandas* de remediación, lo que llevan a la reducción de las rutas de transferencia de los contaminantes, junto con la restauración y/o la ampliación de servicios del emplazamiento (Burges et al. 2017, Cundy et al. 2016). La fitogestión promueve el uso de opciones *blandas* de remediación (basadas en la interacción entre plantas, microorganismos y enmiendas del suelo) dentro de una solución integrada de gestión de riesgos para sitios abandonados. El uso de plantas rentables y la manipulación del sistema suelo-planta-microbiano pueden controlar la fracción biodisponible de los contaminantes del suelo, al tiempo que maximizan los rendimientos económicos y/o ecológicos, pero minimizan los riesgos ambientales. Los beneficios potenciales incluyen la gestión de aguas de escorrentía/drenaje, la provisión de espacios verdes, la prevención de la erosión del suelo, la generación de energía y materiales renovables, la restauración/rehabilitación de comunidades vegetales, microbianas y animales, la mitigación de gases de efecto invernadero y el secuestro de carbono, la recuperación de los valores de la tierra, etc. (Evangelou et al., 2015; Kidd et al. 2015; Cundy et al. 2016; Smek et al., 2016; Xue et al., 2018; Touceda-González et al., 2017).

En los últimos años, la fitogestión ha pasado de un nivel de pequeña escala a su implementación a gran escala en el campo. Sin embargo, los efectos a largo plazo de distintas opciones de fitogestión sobre las funciones ecológicas del suelo y los servicios de los ecosistemas han sido mal evaluados e informados. El objetivo del proyecto PhytoSUDOE fue mejorar nuestra comprensión y aportar evidencias de los efectos de la fitogestión sobre la funcionalidad del suelo y la provisión de servicios ecosistémicos a partir de ensayos de campo de larga duración. El grupo de trabajo GT4 evaluó la recuperación *de funciones ecológicas clave en el suministro de servicios ecosistémicos en los emplazamientos fitogestionados* mediante el estudio de propiedades y procesos del suelo en los principales emplazamientos de la red PhytoSUDOE, con atención especial a: 1) Propiedades físico-químicas básicas, 2) Dinámica de la materia orgánica del suelo, 3) Fertilidad del suelo y ciclado de nutrientes, 4) Contenido total y biodisponible de contaminantes, 5) Estructura del suelo, retención y filtración del agua, y 6) Alteración de los minerales en el suelo rizosférico.

I.2. Opciones de fitogestión

Las opciones *blandas* de rehabilitación (GRO, siglas en inglés) fueron desarrolladas como alternativas ecológicas a los métodos tradicionales de ingeniería civil de rehabilitación de suelos (Kidd et al. 2015). Estas opciones incluyen técnicas de estabilización *in situ* (inactivación) y técnicas basadas en plantas verdes (generalmente denominadas fitorremediación), y tienen como objetivo disminuir el contenido lábil (biodisponible) y/o total de contaminantes (Cundy et al., 2016). Estas técnicas se basan, principalmente, en el uso de plantas, microorganismos del suelo y enmiendas, también asistidas por el manejo agronómico, que reducen de forma efectiva las rutas de transferencia de contaminantes, al tiempo que preservan el recurso edáfico y recupera las funciones ecológicas (Vangronsveld et al. 2009). El uso de tierras contaminadas para la producción de biomasa útil (ej. madera, cultivos bioenergéticos, productos biofortificados, ecomateriales, etc.) se incluye en el concepto de fitogestión (Robinson et al. 2009) y se considera esencial para el éxito comercial de estas fitotecnologías (Conesa et al. 2012). Las guías que se han producido como parte del proyecto PhytoSUDOE se basan en experiencias en suelos contaminados con met(loid)es.

A continuación se describen varias opciones de fitogestión:



- La fitoestabilización utiliza especies vegetales tolerantes con un fenotipo de exclusión de TE para establecer una cubierta vegetal y estabilizar y/o reducir progresivamente la disponibilidad de los contaminantes del suelo (Mench et al. 2006, Ruttens et al. 2006a, 2006b, Vangronsveld et al. 2009, Dary et al. 2010). La incorporación de enmiendas en el suelo o el uso de la inoculación microbiana (fitoestabilización asistida) (Mench et al. 2010) puede disminuir aún más la biodisponibilidad y la fitotoxicidad de los contaminantes en

la zona de la raíz, al tiempo que mejora el establecimiento de la planta. La fitoestabilización no conduce a la eliminación real de contaminantes, pero reduce su biodisponibilidad y transferencia a otros compartimentos ambientales. La acción mecánica de las raíces de las plantas reduce la erosión y transporte de partículas del suelo a través de agentes naturales, mientras que la evapotranspiración minimiza la lixiviación durante la temporada de crecimiento y, por lo tanto, la diseminación de contaminantes. Además, la adsorción, la precipitación y la acumulación de contaminantes en la rizosfera (en colaboración con microorganismos asociados con las raíces de las plantas) conllevan su inmovilización (Mench et al. 2010).



- La fitoextracción se basa en el uso de plantas tolerantes a TE que absorben contaminantes (en general, dos o tres metal(oid)es (rara vez más) del suelo y los acumulan en su biomasa aérea cosechable en cantidades superiores a sus concentraciones normales (Vangronsveld et al. 2009). La fitoextracción puede ser ayudada por enmiendas del suelo, agentes químicos y microorganismos del suelo (fitoextracción asistida). Cuando los TE con valor económico (como Ni, Au, etc.) se recuperan de la biomasa vegetal (bio-minerales), se la conoce como fitominería (Chaney et al. 2007). Otra opción es pirolizar/calcinar dicha biomasa rica en metal(oid)es y utilizar el biochar o las cenizas como ecocatalizadores en la química “verde” (Escande et al. 2014; Clavé et al. 2016).



- La fitovolatilización aprovecha la capacidad de las plantas para transformar los contaminantes en compuestos volátiles ya sea fuera o dentro de algunas partes de la planta, después su absorción, o absorber y transportar compuestos volátiles desde el suelo a la biomasa aérea, donde pueden liberarse a la atmósfera (Wenzel 2009). Cuando el contaminante se transforma y se libera directamente del suelo que rodea las raíces de las plantas (rizosfera), generalmente se denomina rizovolatilización (Zhang y Frankenberger 2000).



- La fitodegradación o fitotransformación utiliza plantas (y sus microorganismos asociados) para degradar los contaminantes orgánicos a metabolitos no tóxicos que tienen a sus concentraciones un efecto tóxico menor o nulo (Weyens et al. 2009b). Cuando la degradación tiene lugar en la rizosfera de las plantas (debido a la actividad microbiana o la liberación de enzimas de las plantas), los términos como fitoestimulación o rizodegradación son más correctos (Becerra-Castro et al. 2013c)
- La rizofiltración se basa en el uso de plantas acuáticas para absorber y/o adsorber en sus raíces los contaminantes presentes en el agua, los sedimentos o los residuos acuosos. El uso de macrófitos acuáticos como biofiltros en humedales naturales y construidos e instalaciones de tratamiento de aguas residuales ha ganado interés debido a sus conocidas propiedades de bioacumulación (Marchand et al., 2010; Salem et al. 2014).

I.3. Ventajas y limitaciones

La rehabilitación de suelos contaminados mediante fitotecnologías se considera una alternativa respetuosa con el medio ambiente, estética y económicamente viable, alternativa a métodos más *duros* basados en la ingeniería civil. Además, la fitogestión puede ser aplicada *in situ* y a gran escala. El establecimiento de una extensa cobertura vegetal evita la dispersión por erosión hídrica o eólicas de las partículas contaminadas de suelo y puede reducir la disponibilidad y movilidad de contaminantes a través de la acumulación en raíces, la adsorción inducida por la rizosfera y la precipitación y/o degradación (Vangronsveld et al. 2009). Sin embargo, estas técnicas, por supuesto, presentan una serie de limitaciones y aún requieren optimización antes de que puedan implementarse completamente a gran escala. Además de los problemas inherentes asociados con cualquier práctica agronómica (como la dependencia del clima y la estación, los brotes de plagas o enfermedades, etc.), un problema importante asociado con estas técnicas es el tiempo requerido para el proceso de limpieza (de especial preocupación en la fitoextracción). Varios autores han sugerido que, para ser realistas, el tiempo de limpieza no debe superar los 10 años (Robinson et al. 2009, Vangronsveld et al. 2009). El tiempo requerido también puede reducirse significativamente si los valores objetivo se basan en la fracción biodisponible de contaminantes y las vías de transferencia de los contaminantes en lugar de su concentración total. Como se mencionó anteriormente, el cambio de las estrategias de fitorremediación a las opciones de fitogestión, en las cuales las estrategias de remediación se combinan con las opciones de manejo sostenible del sitio, resulta en una ganancia neta (o al menos no hay una reducción bruta) en las funciones del suelo y los servicios del ecosistema, además de lograr la gestión de riesgos (Cundy et al. 2016). La provisión de servicios ecosistémicos puede compensar algunas de las limitaciones del proceso de remediación. En este contexto, la fitostabilización (asistida) debe considerarse como una estrategia de manejo para sitios contaminados que ofrece beneficios económicos, ambientales y sociales (Cundy et al. 2016).

Las condiciones climáticas plantean una limitación crucial y obvia para el éxito de la fitogestión. La temperatura controla la transpiración, la química del agua, el crecimiento y el metabolismo de las plantas y, por lo tanto, afecta directamente la absorción de contaminantes y a su destino dentro de la plantas y otros compartimentos del ecosistemas (Bhargava et al., 2012). La humedad del suelo afecta tanto el crecimiento vegetal como el transporte de contaminantes en el suelo, y la gestión de GRO también necesita gestión del agua, especialmente en las zonas áridas y semiáridas que sufren períodos de sequía y calor relativamente largos. La sequía prolongada induce el estrés, lo que aumenta la sensibilidad de las plantas a los patógenos o

herbivoros y, lo que es más importante, reduce el crecimiento de las plantas con implicaciones negativas en el éxito de la fitorremediación. Otros problemas específicos del sitio se refieren a áreas de minería y suelos arenosos donde los suelos a menudo se caracterizan por una baja capacidad de retención de agua (Kidd et al., 2015).

Como se mencionó anteriormente, una limitación importante de la fitoextracción es el largo periodo de tiempo necesario para extraer el meta(loide)l de los suelos, particularmente en sitios con contaminación media a alta (Zhao et al. 2003). Sin embargo, si el objetivo de la estrategia de fitoextracción es solo eliminar la fracción de meta(loide)l biodisponible del suelo ("eliminación de contaminantes biodisponible") y no alcanzar los objetivos de concentración total de metal establecidos por los marcos legales, entonces el tiempo requerido para alcanzar con éxito este objetivo es mucho más corto (Vangronsveld et al. 2009; Mench et al., 2018). Además, para la fitoextracción, la baja biomasa y el crecimiento lento de la mayoría de las plantas hiperacumuladores son en gran parte responsables del largo tiempo requerido. Esta limitación se puede superar, hasta cierto punto, utilizando especies de plantas que proporcionan un valor añadido para obtener un beneficio económico durante el proceso de fitoextracción. Los cultivos energéticos, como *Miscanthus* spp., *Ricinus communis* L., *Brassica napus* L., han sido propuesto debido a su tolerancia al metal y su capacidad de acumulación, junto con su utilidad para la producción de biocombustibles (Burges et al., 2018). Se están estudiando otras aplicaciones comerciales de plantas utilizadas en la fitorremediación, como la producción de biochar, materias primas para industrias (petróleo, papel, bioquímicos, aceites esenciales, etc.) y fines medicinales (Pandey et al. 2016). El uso de árboles de rápido crecimiento ofrece la posibilidad de combinar la extracción de metales (Cd, Zn, Ni) con la producción de biomasa para bioenergía y otros productos finales (por ejemplo, madera, resina, adhesivos, etc.) (Schroder et al. 2008). La recuperación de metales de alto valor o elementos estratégicos, a partir de biomasa vegetal rica en metales, es otro medio para aumentar la viabilidad económica de la fitoextracción (fitominería), mientras que, al mismo tiempo, elimina la necesidad de desechar la biomasa contaminada. Chaney et al. (2007) demostraron que la fitominería de Ni puede ser altamente rentable en suelos contaminados con Ni.

Los aspectos adicionales que deben considerarse incluyen el grado de contaminación del suelo, la biodisponibilidad y accesibilidad de los contaminantes, y la capacidad de las plantas y sus microorganismos asociados para adsorber, acumular y/o degradar los contaminantes (Vangronsveld et al. 2009). Se ha propuesto la fitoextracción asistida utilizando quelatos como un medio para aumentar la biodisponibilidad del metal, pero una limitación importante de la fitoextracción inducida por el quelato es la posibilidad

de promover la lixiviación del metal a otros compartimentos ambientales (p. ej., al agua subterránea) (Burges et al., 2018)

El establecimiento y crecimiento de plantas en sitios contaminados son otro obstáculo importante (Tordoff et al. 2000, Mendez and Maier 2008). Además de las concentraciones fitotóxicas de contaminantes, los suelos contaminados generalmente presentan condiciones edáficas que pueden limitar severamente el crecimiento vegetal (deficiencia de nutrientes, mala estructura del suelo, falta de materia orgánica, etc.). La selección cuidadosa de especies de plantas tolerantes y resistentes es vital para el éxito de las estrategias de fitogestión (Batty 2005, Clemente et al. 2012, Parraga-Aguado et al. 2014). La eficiencia de las fitotecnologías también puede mejorarse mediante la aplicación de prácticas agronómicas. Por ejemplo, distintos patrones de cultivo (rotación, cultivos intercalados) pueden mejorar el crecimiento y el rendimiento vegetal y, dependiendo de la fitotecnología, se pueden diseñar para potenciar o mitigar la disponibilidad, absorción y acumulación metálica (Kidd et al. 2015). Los cultivos intercalados, tradicionalmente utilizados en la agricultura para aumentar el rendimiento de los cultivos, pueden combinar plantas fitoextractoras con otros cultivos, para mejorar la fitorremediación, al tiempo que aporta beneficios económicos (Burges et al., 2018). El uso de plantas con raíces profundas, plantas micorrizadas o bioinóculos puede mejorar el crecimiento vegetal y la eficiencia de las GRO (Kidd et al. 2009, 2015). La aplicación de enmiendas orgánicas e inorgánicas puede optimizar el crecimiento y el rendimiento vegetal al mejorar las propiedades fisicoquímicas del suelo, la fertilidad y la actividad y diversidad microbiana (Bolan et al. 2011, Pardo et al. 2014b, 2014c). Además, las enmiendas influyen directa o indirectamente en la disponibilidad y movilidad de los contaminantes a través de la modificación de las condiciones físico-químicas y biológicas del suelo (pH, condiciones redox, concentración de agentes quelantes y complejantes, capacidad de intercambio de cationes y actividad biológica) (Pérez-De- Mora et al. 2006, Kidd et al. 2015, Pardo et al. 2016a). Dependiendo de las características del sitio, será necesaria una selección de las opciones de fitogestión más apropiadas; en algunos casos puede ser necesaria la implementación de distintas opciones para mejorar la recuperación.

I.4. Estado actual

La fitogestión requiere el uso de prácticas agronómicas y de gestión de cultivos apropiadas, y puede ser asistida mediante la aplicación de enmiendas del suelo. Sin embargo, los ensayos de campo a largo plazo son cruciales para monitorear la eficiencia y la sostenibilidad de las opciones de fitogestión a lo largo del tiempo. Podemos ver en la literatura un número creciente de estudios en condiciones de campo, lo que debería ayudar a alcanzar la aplicación de estas técnicas a gran escala. Estos estudios de campo han demostrado que la fitoestabilización puede reducir efectivamente la movilidad del metal(loide) traza al modificar la especiación, así como a mejorar las propiedades fisicoquímicas del suelo y la fertilidad, aumentar la diversidad microbiana y restaurar la funcionalidad a largo plazo (Clemente et al. 2012, Zornoza et al. 2012, Pardo et al. 2014d, 2016a, 2017a, Kumpiene et al. 2009, Pardo et al. 2014c, Quintela-Sabaris et al. 2017; Xue et al. 2015, 2018; Mench et al. 2018). En cualquier sitio particular, será necesario implementar un programa de monitoreo a largo plazo para garantizar que se mantiene de cualquier logro en la reducción de la toxicidad y la mejora en la calidad del suelo (Epelde et al. 2014).

Los procesos de fitorremediación se rigen por las interacciones entre tres componentes clave: suelo, plantas y microorganismos, y algunas interacciones bióticas. En los últimos años hemos asistido a un creciente interés en el efecto de los microorganismos sobre el crecimiento vegetal y la biodisponibilidad y degradación de los contaminantes. Un conjunto creciente de resultados indica un papel crucial de los microorganismos asociados a las plantas para mejorar el éxito de la fitorremediación (Sessitsch et al. 2013, Afzal et al. 2014, Lenoir et al. 2016, Thijs et al. 2016, Benizri y Kidd 2017, Deng y Cao 2017, Feng et al. 2017, Kidd et al. 2017). Los organismos rizosféricos y endofíticos que han recibido mucha atención, debido a sus efectos beneficiosos sobre el crecimiento saludable de las plantas y la resistencia al estrés, son las bacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPB), micorrizas y hongos endófitos (Mendes et al. 2013, Coninx et al. 2017) . Los microorganismos pueden aumentar la disponibilidad de nutrientes esenciales para las plantas, como nitrógeno (organismos fijadores de N_2), fósforo (por solubilización o mineralización a través de la producción de ácidos orgánicos y/o fosfatasas) o hierro (liberando agentes quelantes específicos al Fe (III)), o sideróforos). Las bacterias promotoras del crecimiento también pueden influir directamente en el crecimiento y la fisiología de las plantas a través de la producción de fitohormonas (por ejemplo, IAA o reduciendo los niveles de etileno en las plantas a través de la producción de la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa). Algunas bacterias pueden inhibir o reducir las enfermedades de las plantas indirectamente compitiendo por los nutrientes y el espacio (exclusión de

nicho), produciendo compuestos antimicrobianos o mediante la inducción de mecanismos de defensa de las plantas (Compant et al. 2005, Lemanceau et al. 2007).

Distintos ensayos de campo, que implementan la fitoestabilización en suelos contaminados con metales, han demostrado los beneficios de las enmiendas orgánicas para la recuperación de la fertilidad biológica del suelo. La biomasa microbiana y las actividades enzimáticas fueron mayores en suelos ácidos de mina tratados con estiércol de cerdo/lodos de depuración/residuos de mármol que en los suelos no tratados (Zanuzzi et al. 2009, Zornoza et al. 2012). Touceda-González et al. (2017) realizó un ensayo en suelos ácidos una mina de Cu con la aplicación de compost de lodos de depuradora y el establecimiento de un sistema SRC y una cubierta de herbáceas. La actividad microbiana fue estimulada y condujo al establecimiento de ciclos biogeoquímicos vitales. Pardo et al. (2014d) usó con éxito el compost de residuos de almazaras de oliva como enmienda del suelo para promover el crecimiento de una leguminosa nativa (*Bituminaria bituminosa* (L.) CH Stirt.) en un suelo afectado por una mina en una zona semiárida (sureste de España) contaminada con elementos traza (As, Cd, Cu, Mn, Pb y Zn).

Sin embargo, el uso de las enmiendas debe realizarse con precaución, ya que pueden tener efectos indeseables: por ejemplo, el uso inadecuado de las enmiendas orgánicas puede provocar la contaminación del agua subterránea por nitratos, antibióticos, hormonas y pérdida de la biodiversidad del suelo. riesgo para la salud humana y ambiental (Goss et al. 2013; Burges et al. 2016, 2018). Las enmiendas orgánicas e inorgánicas pueden inducir otros efectos negativos como la destrucción de la estructura del suelo, la adición de compuestos potencialmente tóxicos, la inmovilización de nutrientes esenciales, etc. (Alkorta et al. 2010). Además, aunque las enmiendas han demostrado estimular la revegetación, las raíces de las plantas pueden no extenderse fácilmente desde una capa fértil al suelo contaminado no enmendado subyacente (Pulford y Watson 2003), lo que limita el potencial de esta fitotecnología a la capa superior del suelo.

I.5. Marco legal y regulador

La preocupación por la creciente pérdida de calidad del suelo debida a la degradación o contaminación llevó a la Comisión Europea a desarrollar una Directiva marco de suelos (EC, 2006) que presentó una Estrategia temática para la protección del suelo, considerando ocho amenazas principales para los suelos europeos: (1) erosión, (2) pérdida de materia orgánica, (3) contaminación, (4) compactación y otra degradación física del suelo, (5) salinización, (6) disminución de la biodiversidad, (7) sellado del suelo por infraestructuras y (8) inundaciones y deslizamientos de tierras (CE, 2006). Lamentablemente, esta estrategia temática no fue aceptada por todos los países miembros de la UE. La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) estableció en 2012 la Asociación Mundial para el Suelo (SGP, siglas en inglés) con el objetivo de estimular la interacción y colaboración entre todas las partes interesadas relevantes (desde los usuarios de la tierra hasta los responsables políticos) para el desarrollo de legislación y medidas de gestión sostenible del suelo. Esta propuesta fue muy importante y promovió la discusión sobre cómo traducir la ciencia del suelo en políticas ambientales (Bouma et al 2017). El Grupo técnico intergubernamental sobre suelos (ITPS, siglas en inglés), que se estableció en la primera Asamblea plenaria del SGP en 2013, publicó el primer informe completo sobre el estado de los recursos edáficos mundiales (FAO y ITPS, 2015). A escala mundial, las principales amenazas a las funciones del identificadas fueron: erosión, pérdida de carbono orgánico, desequilibrio de nutrientes y salinización y sodificación. La protección del suelo también se incluye en otras políticas europeas, como la Directiva de nitratos y la Directiva marco sobre el agua, y en las legislaciones nacionales de distintos países, que abordan específicamente las regulaciones del agua, residuos y minería. Aunque estas políticas consideran la contaminación del suelo y contribuyen indirectamente a la protección del suelo, solo presentan al suelo como un objetivo secundario.

La legislación disponible en muchos países industrializados, que regula la contaminación local del suelo y las pautas para evaluar los suelos potencialmente contaminados, se basa en las concentraciones totales de contaminantes. Sin embargo, se sabe que los efectos negativos de los metal(loid)es en el funcionamiento del suelo se relacionan más con las fracciones móviles/biodisponibles más que con las concentraciones totales de los metales (Kumpiene et al. 2009). Por lo tanto, en los países europeos, los estudios específicos de sitio, basados en modelos conceptuales, adoptan cada vez más el concepto de ruta de transferencia de los contaminantes y la evaluación de riesgos (por ejemplo, Francia, Reino Unido, Alemania, etc.). Por otro lado, es frecuente que las concentraciones biodisponibles no muestren correlación con las concentraciones totales (Burgess et al. 2015). Hay consenso general en que para la protección ambiental y la evaluación del riesgo es más importante considerar la biodisponibilidad del metal(oide) que su concentración total, porque representa la

fracción lábil sujeta a la lixiviación y la absorción por parte de los organismos del suelo (Madejón et al. 2006). En los últimos, para enfrentarse a los efectos locales de la contaminación del suelo, se ha desarrollado métodos más sofisticados basados en el riesgo, que incluyen el concepto ruta de transferencia del contaminante (ruta-receptor-contaminante). Políticos, gestores y las entidades reguladoras han aceptado que la biodisponibilidad de los contaminantes del suelo es una variable clave que se debe tener en cuenta en la evaluación de riesgos, las políticas de regulación y la rehabilitación de suelos (Naidu et al. 2015). Estas políticas orientadas al riesgo se centran en el abandono de las políticas dirigidas a restaurar los suelos a su estado original "limpio". Algunos valores nacionales de referencia, para la declaración de suelo contaminado o que necesitan rehabilitación, ahora consideran la biodisponibilidad explícitamente (por ejemplo, en el Reino Unido, Bélgica, Suiza) o implícitamente (los valores de declaración se establecen de acuerdo con las principales propiedades fisicoquímicas del suelo, por ejemplo, pH, granulometría, materia orgánica). Varias opciones de fitogestión se dirigen a eliminar la fracción biodisponible del contaminante ("eliminación biodisponible"), un objetivo que reduce significativamente el tiempo necesario para la rehabilitación.

Actualmente, en el marco de la rehabilitación sostenible que se está desarrollando en todo el mundo, emerge un consenso (Bardos, 2014) que está culminando en la redacción de estándares internacionales por parte de ISO y ASTM. La base fundamental de la rehabilitación sostenible es promover el uso de prácticas más sostenibles durante las actividades de limpieza ambiental, con el objetivo de equilibrar la viabilidad económica, la conservación de los recursos naturales y la biodiversidad, y la mejora de la calidad de vida en las comunidades circundantes. En términos generales, los conceptos de rehabilitación sostenible se basan en lograr un beneficio neto en una gama de intereses ambientales, económicos y sociales, que se consideran representativos de la sostenibilidad. Este es un objetivo clave en la rehabilitación y regeneración de tierras, dado la gran herencia global de terrenos contaminados y los recursos necesarios y costes para que estos terrenos vuelvan a ser útiles. La implementación de la Norma de la Organización Internacional de Normalización (ISO) sobre Remediación Sostenible se encuentra ahora en una etapa avanzada (REFS). La remediación comienza con la evaluación de la opción que acorta la lista de estrategias que podrían conseguir la reducción del riesgo requerida. Una estrategia de rehabilitación comprende una o más tecnologías de remediación que permitirán la eliminación y/o control seguro y oportuno del riesgo inaceptable. La norma ISO ayudará a los evaluadores a identificar las estrategias de remediación alternativas válidas y más sostenibles.

II. Funciones del suelo y servicios del ecosistema: Indicadores de calidad

II. Funciones del suelo, servicios del ecosistema e indicadores de calidad

II.1. Funciones del suelo y servicios del ecosistema

En comparación con otros reservorios ambientales, el suelo es un medio complejo que desempeña múltiples funciones naturales y de uso. De acuerdo con sus características, el suelo puede desempeñar de forma simultánea varias de esas funciones, y la capacidad de un suelo para funcionar fue utilizada para definir el concepto de "calidad del suelo", desarrollado en la década de los 90s. De forma concisa, la calidad del suelo ha sido definida como "la capacidad de un tipo de suelo específico para funcionar, dentro de un ecosistema dado y límites de uso del terreno, para sostener productividad, mantener la calidad ambiental y promover la salud vegetal y animal" (Paggio y Mansen, 2008).

Las principales funciones del suelo han sido expresadas en diferentes términos según las fuentes, pero sistemáticamente cubren las mismas áreas:

- Mantiene la actividad biológica y la productividad; sirve como medio para el crecimiento de plantas / alimentos / fibras, soporta la productividad / rendimiento de las plantas, soporta la salud humana / animal
- Actúa como un conjunto de biodiversidad y genes.
- Distribuye y regula el flujo de agua y los solutos a través del medio ambiente.
- Es un amortiguador o filtro ambiental; tiene capacidad de filtrar, tamponar, degradar, inmovilizar y reducir la toxicidad de sustancias orgánicas e inorgánicas; mantiene el medio ambiente
- Cicla nutrientes, agua, energía y otros elementos a través de la biosfera, incluyendo el carbono.
- Apoya la estructura socioeconómica, los valores culturales y estéticos, y una plataforma para actividades humanas y
- un archivo de patrimonio

De forma general, las funciones del suelo, sugeridas en la literatura, concuerdan con la definición de *servicios del ecosistema*. Aunque este concepto está evolucionando, el término hace referencia normalmente a los beneficios que el ser humano obtiene (directa o indirectamente) de los ecosistemas naturales (MEA, 2005).

Los servicios de los ecosistemas fueron originalmente clasificados en cuatro categorías (MEA, 2005): i) *servicio de soporte*, necesario para la provisión de todos los otros servicios (p.ej. formación del suelo, producción, ciclado de nutrientes, habitat, biodiversidad), ii) *servicio de suministro*, productos obtenidos a partir del ecosistema (p.ej. alimento, agua, madera, fibras, combustibles y otros productos), iii) *servicio de regulación*, beneficio obtenido a partir de la regulación aportada por los procesos del

ecosistema (p.ej. protección frente a inundaciones, erosión, regulación y purificación del agua, mantenimiento de la calidad del aire, control climático) y iv) *servicios culturales*, beneficios no materiales obtenidos del ecosistema (p.ej. recreativos, educativos, estéticos, científicos, identidad cultural). Un nivel elevado grado de categorización y nivel de detalle de los ES es aportado la Common International Classification of Ecosystem Services (CICES, V4.3, <http://www.cices.eu>).

II.2. Recuperación de las funciones del suelo por fitogestión de sitios degradados

La degradación del suelo daña severamente el suministro de servicios ecosistémicos dependientes de sus funciones. La fitogestión de terrenos degradados/contaminados permite rehabilitar algunas de estas funciones y recuperar (o ampliar) servicios del ecosistema, incluyendo el de soporte (formación de suelo, ciclado de nutrientes, hábitat), suministro (pej. fibras, biomasa) y regulación (retención y purificación del agua, secuestro de C, inactivación de contaminantes).

Cuantificar el grado de recuperación y/o ampliación de las funciones y servicios ecosistémicos de un suelo después de la fitogestión es clave para evaluar el éxito de las distintas alternativas y escalar las más adecuadas. Sin embargo, muchos autores argumentan que faltan métodos operativos satisfactorios para cuantificar las contribuciones de los suelos al suministro de SE. Si tenemos en cuenta que las funciones del suelo son propiedades integrales que surgen de interacciones complejas entre los procesos físicos, químicos y biológicos, en función de múltiples factores, podemos entender que su evaluación y cuantificación es una tarea difícil. Las funciones del suelo y los servicios aportados no pueden ser en sí mismos directamente medidos, por lo que se recurre a la medida de propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo para cuantificar el cumplimiento de las funciones del suelo relacionadas con objetivos específicos. Estas propiedades son, entonces, utilizadas como indicadores (directos o indirectos) de la función del suelo y clásicamente se agrupan bajo el término de *indicadores de calidad del suelo*. La selección de los indicadores adecuados es un reto en el marco de la evaluación de las estrategias de fitogestión.

Haines-Young y Potschin (2008) conceptualizaron la relación de las propiedades del suelo, y procesos edáficos, con las funciones del suelo y bienes y servicios aportados (Fig. 1). En esta conceptualización, el punto de partida de la cadena de procesamiento de datos es proporcionado por los estudios derivados de las observaciones de campo (descripciones de perfiles de suelo) y del análisis físico/químico/biológico de las propiedades del suelo. Las propiedades del suelo clave pueden ser inherentes, o estáticas, y dinámicas. Las propiedades inherentes o invariables del suelo prácticamente no cambian con el manejo del suelo. Se forman a lo largo de miles de

años y son el resultado de la interacción de los factores de formación (clima, topografía, material de partida, organismos vivos y tiempo). Textura del suelo, tipo de arcilla, profundidad,... son ejemplos de propiedades inherentes. Las propiedades dinámicas dependen de cambios naturales y de las prácticas de manejo del suelo y varían escala de tiempo humano (años, décadas a siglos). Algunas propiedades dinámicas cambian en un año o en una estación de crecimiento. El pH del suelo, contenido de materia orgánica, contenido de agua y contenido de nutrientes,... son ejemplos de propiedades dinámicas. Específicamente, los cambios temporales en las propiedades dinámicas del suelo permiten hacer el seguimiento a corto-medio plazo de las estrategias de fitogestión

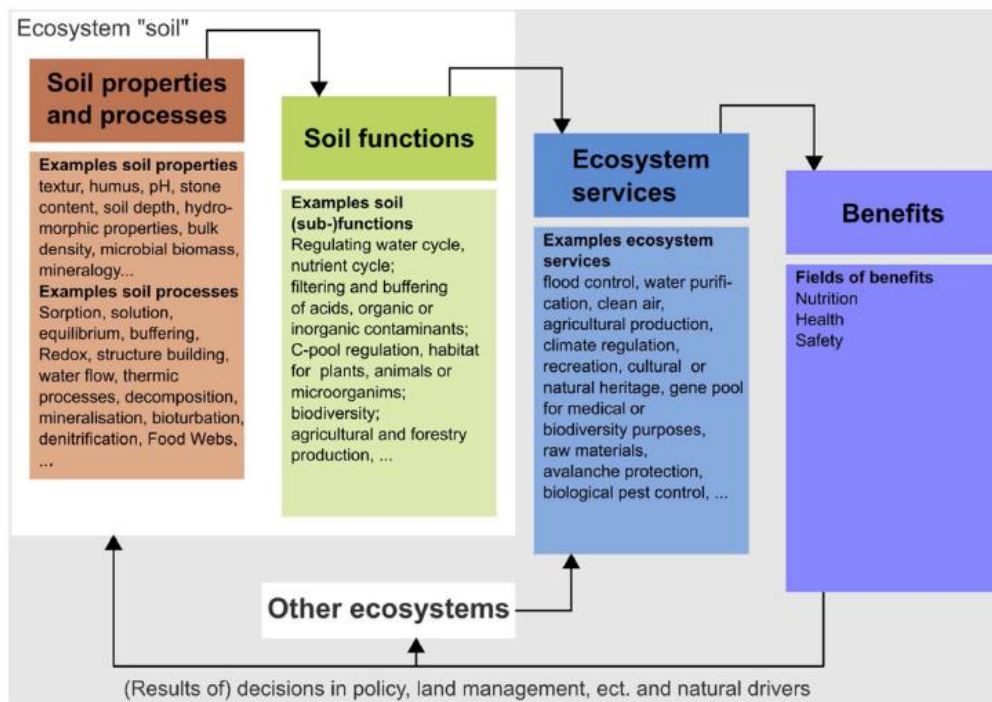


Fig. 1. Diagrama de cascada desarrollado por Haines-Young y Potschin (Gernier et al. 2018) que muestra la conexión entre propiedades/procesos del suelo y servicios del ecosistema a través de las funciones.

II.3. Selección de indicadores de calidad del suelo

La selección de indicadores clave del suelo es uno de los pasos más importante para evaluar el éxito de la fitogestión y debe ser considerada con detenimiento. En este sentido, la primera consideración es que esta selección debe basarse en la relación entre los indicadores y las funciones del suelo o los servicios de los ecosistemas que se hayan propuesto. En la mayoría de las publicaciones sobre evaluación de calidad y funciones del suelo, se incluye al indicadores físicos, químicos y biológicos. Bünemann

et al (2018) hicieron una revisión reciente de los indicadores utilizados en distintos sistemas de evaluación durante los últimos 30 años. Esta revisión revelaba un cambio en la evaluación de la calidad del suelo a lo largo del tiempo en términos de objetivos, herramientas y métodos y enfoque general. En los primeros sistemas de evaluación aparecían sistemáticamente los indicadores físicos del suelo, especialmente los relacionados con el almacenamiento de agua, sin embargo eran abandonados en periodos posteriores y sólo recuperados nuevamente en los últimos cinco años. Entre los indicadores químicos del suelo, el contenido de carbono orgánico del suelo, el pH, el P y el K disponibles, el N total, la conductividad eléctrica, la capacidad de intercambio de cationes y el N mineral se propusieron con mayor frecuencia que todos los demás indicadores. Del mismo modo, la respiración del suelo, la biomasa microbiana, la mineralización de N y la densidad de las lombrices eran los más frecuentes entre los indicadores biológicos. La mención explícita de factores extrínsecos como el clima, la gestión o los datos del sitio era sorprendentemente rara.

Otra consideración importante es establecer un punto de referencia con el que comparar los resultados obtenidos. Los factores extrínsecos, como el material de partida del suelo, el clima, la topografía y la hidrología, pueden influir en los valores potenciales de las propiedades del suelo hasta tal punto que es imposible establecer valores objetivo universales, al menos no en términos absolutos. Por lo tanto, la evaluación de la calidad del suelo debe incluir valores de referencia o referencias para permitir la identificación de los efectos de manejo.

Teniendo todo en cuenta, desde un punto de vista práctico un buen indicador deberían cumplir los siguientes requisitos (Burger y Kelting,1999):

- poseer una línea de base disponible con la que comparar el cambio;
- proporcionar una medida sensible y oportuna de la capacidad de un suelo para funcionar;
- ser aplicable en grandes áreas pero lo suficientemente específico para ser sensible;
- ser capaz de proporcionar una evaluación continua;
- ser económico, fácil de usar, recopilar y calcular;
- discriminar entre los cambios naturales y los inducidos por el manejo;
- estar altamente correlacionado con la respuesta a largo plazo; y
- Ser receptivo a las medidas correctivas.

II.4. La evaluación de la fitogestión en PhytoSUDOE

El proyecto PhytoSUDOE cubrió una gran variedad de condiciones ambientales, tipos de degradación y alternativas de fitogestión, lo que generó la necesidad y la oportunidad

de armonizar un protocolo de métodos operativos satisfactorios para usarlos como indicadores que permitieran cuantificar la contribución de las distintas estrategias implementadas a la recuperación de la funcionalidad de los suelos degradados fitogestionados. Esta tarea fue abordada por el grupo de trabajo GT4 y aplicó los protocolos armonizados en los 8 emplazamientos fito-gestionados en el territorio Interreg SUDOE. Los indicadores y métodos seleccionados prestaron especial atención a: 1) Las propiedades físico-químicas básicas, 2) La dinámica de la materia orgánica del suelo, 3) La fertilidad del suelo y ciclado de nutrientes, 4) El contenido total y biodisponible de contaminantes, 5) La estructura del suelo, retención y filtración del agua, y 6) La alteración de los minerales en el suelo rizosférico. La mayoría de los indicadores eran físicos y químicos, mientras que la selección y aplicación de indicadores biológicos fue abordada por el grupo de trabajo GT2. Junto a los resultados se incorporó la información tanto extrínseca como intrínseca del sitio obtenida a partir de observaciones directas del terreno.

Los indicadores seleccionados fueron utilizados en dos formas básicas:

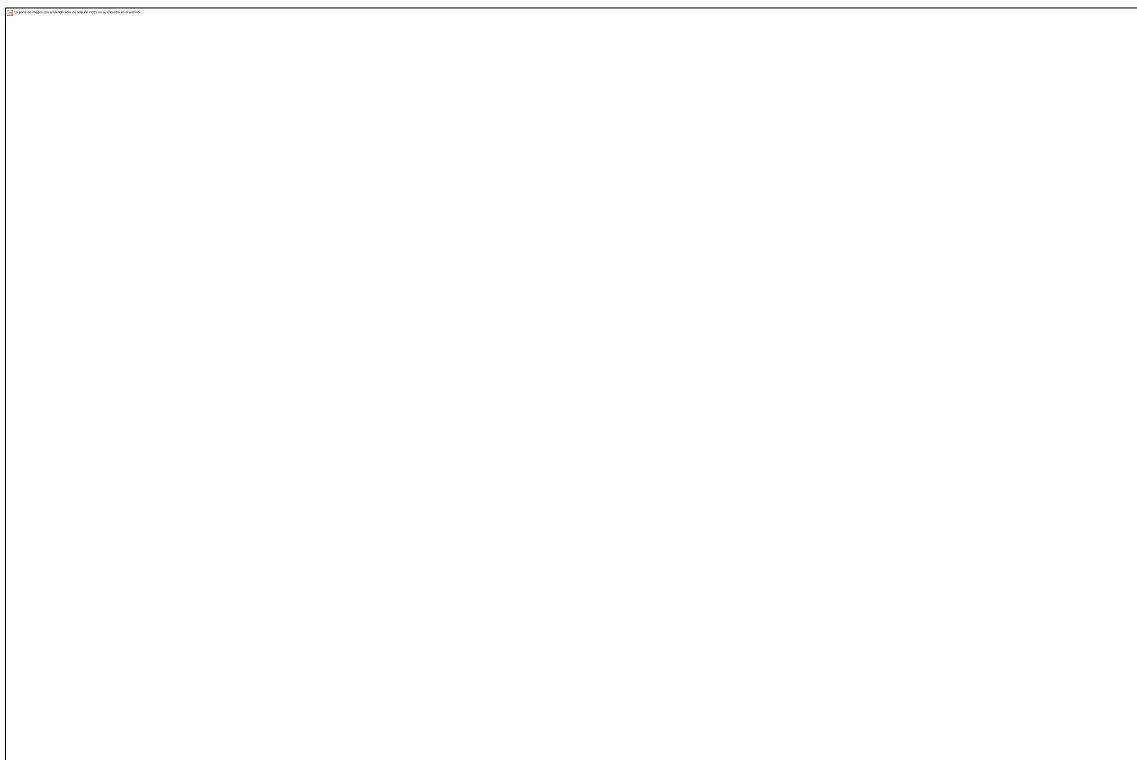
1. Haciendo las determinaciones antes y después de la aplicación de las estrategias de fitogestión y a lo largo del tiempo, para monitorizar cambios o tendencias en los procesos edáficos
2. Comparando los valores medidos con los de una condición del suelo estándar o de referencia. En la mayoría de los casos se seleccionó el tipo o tipos de suelo más frecuentes en el área natural circundante al área degradada, fitogestionada.

Usando las dos formas, los resultados fueron útiles para:

1. realizar comparaciones entre distintos emplazamientos/sistemas de fitogestión, para determinar sus efectos sobre la calidad/funcionalidad del suelo
2. realizar comparaciones a lo largo del tiempo para monitorizar las tendencias en un determinado emplazamiento/opción de fitogestión
3. copar los valores medidos con condiciones edáficas de referencia o con el ecosistema natural

A continuación, se presenta la metodología armonizada para 1) la descripción del suelo en campo y el sistema de toma de muestras de suelo, por un lado, y 2) el análisis en laboratorio de los indicadores seleccionados para los objetivos del proyecto. En cada indicador o grupo de indicadores se pretende: i) definir y describir el indicador, ii) relacionar el indicador con las funciones del suelo, iii) señalar los factores que influyen en el, iv) mostrar la influencia de las prácticas de fitogestión sobre la mejora de la función del suelo y v) proporcionar una referencia para un método de evaluación

III. Guía simplificada para la descripción del suelo y toma de muestras

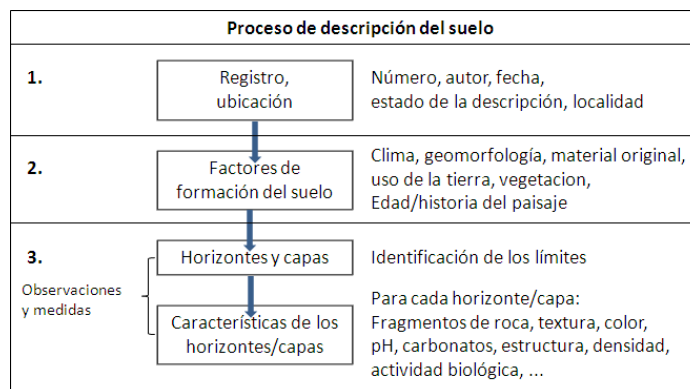


II. Guía simplificada para la descripción del suelo y toma de muestras

Antes de realizar la toma de muestras y el análisis del suelo es esencial recopilar tanta información como sea posible del área, incluyendo las propiedades del suelo y el sitio, las condiciones ambientales y prácticas de manejo. La FAO elaboró una [Guía para la descripción de suelos, 4th Ed. \(FAO, 2006\)](#) cuyo seguimiento nos permitirá una adecuada contextualización y comprensión de los resultados. A continuación, se presentan algunos de los aspectos esenciales seguidos durante la evaluación de los emplazamientos experimentales en PhytoSUDOE.

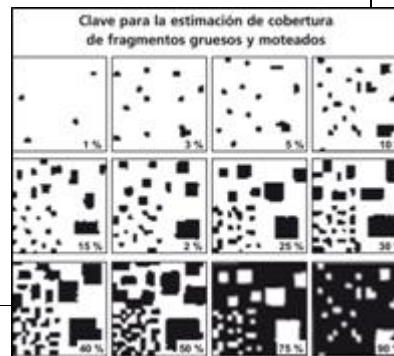
III.1. Descripción del suelo en el campo

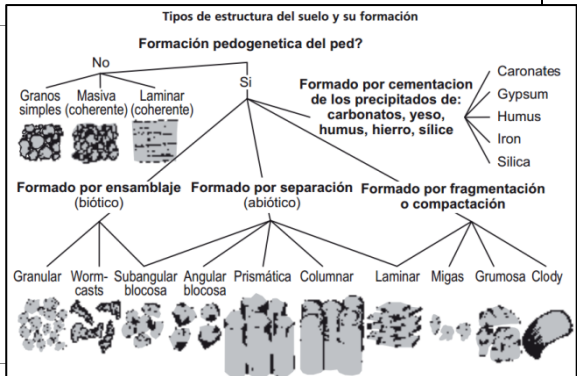
Para comprender la naturaleza, las propiedades, la dinámica y las funciones del suelo, como parte del ecosistema, necesitamos información sobre su morfología, y otras características, que debemos obtener mediante la observación y descripción del suelo en el campo. Para ello podemos excavar una calicata en el terreno, suficientemente grande para permitir la observación del perfil completo. También podemos utilizar antiguos cortes del terreno, por ejemplo en caminos o carreteras, pero después retirar suficiente material para exponer el suelo fresco. En primer lugar, anotamos las características de la superficie del terreno y después, hacemos la descripción del suelo horizonte por horizonte, empezando por el más superficial. Debemos completar la descripción en el campo tanto como nos sea posible siguiendo el listado de aspectos que se muestra en la tabla siguiente. Esta guía también se puede utilizar aunque sólo estemos haciendo la descripción del horizonte superficial o de la capa arable. Fotos o dibujos que muestren la posición del suelo en el paisaje y el perfil del suelo con todos los horizontes serán de gran utilidad para una interpretación adecuada de la descripción.



Tabl 1. Listado para la descripción del suelo

1. Información general del sitio, registro y localización	
Fecha de descripción	
Autores	
Localización	
Elevación (msnm)	
Hoja topográfica y coordenadas	
2. Factores de formación del suelo	
Clima y condiciones atmosféricas	
Clima del suelo	
Forma del terreno y topografía (relieve)	Geoforma principal (morfología del paisaje)
	Posición del sitio dentro del paisaje
	Pendiente: forma, gradiente y orientación
Uso de la tierra y vegetación	Uso de la tierra/cultivos
	Influencia humana
Material original	
Edad del paisaje	
3. Descripción del suelo in situ	
Características de la superficie	
Afloramientos rocosos:	% superficie cubierta, dureza, distancia entre afloramientos
Fragmentos gruesos superficiales:	% superficie cubierta, tamaño de los fragmentos
Erosión:	No evidencia/Erosión por agua y/o viento Tipo de deslizamientos % área afectada Grado (ligero, moderado, severo, extremo)
Encostramiento	Anchura y consistencia de la costra superficial
Grietas superficiales	Anchura Distancia entre grietas Profundidad
Límite inferior del horizonte	Profundidad (cm desde la superficie) Distinción (anchura del límite, cm) Topografía (suave, ondulado, irregular, fracturado)
Constituyentes primarios	
Textura de la fracción tierra fina	Método de campo (descripción del comportamiento de una muestra de mano). Análisis de laboratorio.
Fragmentos rocosos y artefactos	Abundancia, tamaño, forma, estado de alteración, naturaleza de los fragmentos



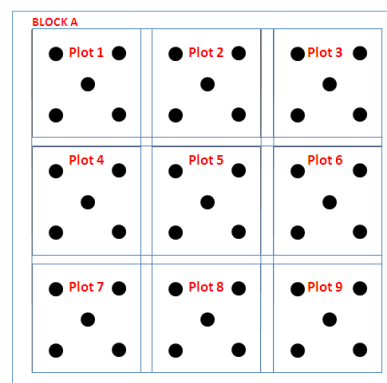
Materia orgánica	Horizonte orgánico / grado de descomposición y humificación																											
Color del suelo (Clave Munsell)	Matriz																											
	Moteados: color, abundancia, forma, tamaño, contraste, límite,... de las manchas																											
Potencial redox y condiciones de reducción	Determinación del potencial redox en campo (<i>in situ</i> , electrodo de Eh)																											
	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="4">Patrones de color reductimórfico y ocurrencia de compuestos de Fe</th> </tr> <tr> <th>Color</th> <th>Color Munsell</th> <th>Fórmula</th> <th>Mineral</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Verde grisáceo, azul claro</td> <td>5-GY-5-B2-3/1-3</td> <td>Fe²⁺/Fe³⁺</td> <td>Compuestos de Fe mezclado (óxidos verde-azulados)</td> </tr> <tr> <td>Blanco, pardo luego de la oxidación</td> <td>N7-8 → 10 YR4/5</td> <td>Fe²⁺CO₃</td> <td>Siderita</td> </tr> <tr> <td>Blanco, azul luego de la oxidación</td> <td>N7-8 → 5-B</td> <td>Fe³⁺(PO₄)₂ · 8 H₂O</td> <td>Vivianita</td> </tr> <tr> <td>Negro azulado (con 10%HCl; olor a H₂S)</td> <td>5-10-B1-2/1-3</td> <td>FeS, FeS₂ (or Fe₃S₄)</td> <td>sulfuros de Fe</td> </tr> <tr> <td>Blanco, después de oxidación blanco</td> <td>N8 → N8</td> <td>- -</td> <td>Perdida completa de compuestos de Fe</td> </tr> </tbody> </table> <p>Fuente: Schlichting et al.(1995)</p>	Patrones de color reductimórfico y ocurrencia de compuestos de Fe				Color	Color Munsell	Fórmula	Mineral	Verde grisáceo, azul claro	5-GY-5-B2-3/1-3	Fe ²⁺ /Fe ³⁺	Compuestos de Fe mezclado (óxidos verde-azulados)	Blanco, pardo luego de la oxidación	N7-8 → 10 YR4/5	Fe ²⁺ CO ₃	Siderita	Blanco, azul luego de la oxidación	N7-8 → 5-B	Fe ³⁺ (PO ₄) ₂ · 8 H ₂ O	Vivianita	Negro azulado (con 10%HCl; olor a H ₂ S)	5-10-B1-2/1-3	FeS, FeS ₂ (or Fe ₃ S ₄)	sulfuros de Fe	Blanco, después de oxidación blanco	N8 → N8	- -
Patrones de color reductimórfico y ocurrencia de compuestos de Fe																												
Color	Color Munsell	Fórmula	Mineral																									
Verde grisáceo, azul claro	5-GY-5-B2-3/1-3	Fe ²⁺ /Fe ³⁺	Compuestos de Fe mezclado (óxidos verde-azulados)																									
Blanco, pardo luego de la oxidación	N7-8 → 10 YR4/5	Fe ²⁺ CO ₃	Siderita																									
Blanco, azul luego de la oxidación	N7-8 → 5-B	Fe ³⁺ (PO ₄) ₂ · 8 H ₂ O	Vivianita																									
Negro azulado (con 10%HCl; olor a H ₂ S)	5-10-B1-2/1-3	FeS, FeS ₂ (or Fe ₃ S ₄)	sulfuros de Fe																									
Blanco, después de oxidación blanco	N8 → N8	- -	Perdida completa de compuestos de Fe																									
Carbonatos	Test 10% HCl																											
Yeso																												
Sales fácilmente solubles	Análisis de laboratorio (CE _{2,5})																											
pH del suelo en campo	Papel indicador																											
Olor del suelo																												
Características ándicas/Ceniza volcánica																												
Contenido en materia orgánica	Descripción en campo. Análisis de laboratorio (% C)																											
Organization of soil constituents																												
Estructura del suelo	<p>Tipo, grado y tamaño de agregados</p> 																											
Consistencia (coherencia del suelo)	Friabilidad, Plasticidad, Adhesividad, Resistencia a la compresión																											
Estado hídrico del suelo	Muy seco, seco, ligeramente húmedo, húmedo, muy húmedo																											
Densidad aparente	Masa de una unidad de volumen de suelo seco (105° C). Muestreo del suelo sin alterar con cilindros.																											
Poros	Porosidad: volumen total de huecos. Cálculo a partir de la densidad aparente																											
	Tipo, tamaño, continuidad, orientación,...de los poros																											
Concentraciones	Revestimientos																											
	Cementación y compactación																											
	Concentraciones minerales																											
Actividad biológica	Raíces																											
	Otros rasgos biológicos																											
Human-made materials																												

Artefactos	Tipo: material artesanal natural, polvo industrial, materiales mixtos, residuos orgánicos, pavimentos y adoquines, líquidos o sólidos sintéticos, residuos líquidos,.... Abundancia, tamaño, dureza, alteración, color
Material transportado por el hombre (MTH, >50% en volumen)	Materiales residuales (ceniza, lodo de coque, lodo de ríos/lagos, lodos de depuradora, ...)
	Materiales vertidos (tierra vegetal, arena, arcilla, margas, gravas, fragmentos de roca, escorias, escombros de construcción, residuos ...)
Geomembranas y roca artificial	Continuidad
	Profundidad

Para información detallada ver [Guía para la descripción de suelos, 4th Ed. \(FAO, 2006\)](#)

III.2. Toma de muestras del suelo en parcelas experimentales

Con ayuda de una llana, una pala o una barrena, y un recipiente, extraer porciones equivalentes de suelo de 5 lugares diferentes dentro de cada parcela experimental (aproximadamente 0,5-1 kg de suelo/punto), siguiendo el diseño anexo mostrado en la figura anexa. Mantener una distancia de seguridad en los bordes de las parcelas. Las muestras serán recogidas de la capa arable en los suelos cultivados, o de los primeros 20 cm superficiales (0-20 cm), o menos si la profundidad del suelo es menor de 20 cm. Combinar las 5 muestras para obtener una muestra compuesta de suelo por parcela.



Además, si hay acceso a algún corte del terreno o se puede excavar una calicata, recoger una muestra representativa de cada uno de los horizontes/capas después de haber realizado la descripción del perfil. Recoger la muestra (1 kg aprox.) proporcionalmente en todo el horizonte. Evitar los límites del horizonte en este muestreo.

Las muestras de suelo se extenderán y se secarán al aire en el laboratorio. Alternativamente, se pueden secar en un horno de aire forzado (<30 °C). Se completará la descripción del suelo. A continuación, se tamizarán muestras de suelo (malla 2 mm) y se calculará el contenido de grava (% en peso de la fracción > 2 mm). Se homogeneizará una fracción <2 mm y se enviará al laboratorio una alícuota de 500 g para su análisis. El resto de la muestra será guardado por el gestor de las parcelas.

IV. Indicadores de calidad del suelo en los emplazamientos degradados con fitogestión



IV.1 Propiedades físico-químicas generales

El proyecto PhytoSDOE estableció un paquete básico de indicadores físico-químicos para obtener una base de datos armonizada que permitiera comparar los resultados en los distintos emplazamientos fitogestionados en el territorio Interreg SUDOE a lo largo del tiempo. Para ello se utilizaron métodos estándar (AFNOR/DIN/ISO/UNE) y procedimientos recomendados en el proyecto GREENLAND (UE, 2015), incluyendo: textura, estructura, densidad, capacidad de retención de agua, pH, potencial redox, salinidad, C orgánico e inorgánico, contenido total de N, P extraíble (Olsen), CIC (método hexamin-Co sin tamponar), cationes de cambio, contenido total y biodisponible de elementos traza (Tabla 2).

La textura se refiere a la distribución de partículas minerales de diferentes tamaños (arena, limo y arcilla) y es uno de los atributos más estables del suelo, difícilmente modificable. La organización de partículas primarias en agregados permite el desarrollo de la estructura del suelo que define el espacio poroso del suelo. A diferencia de la textura, la estructura es una propiedad dinámica muy sensible a las prácticas de manejo del suelo. Ambas propiedades son importantes porque influyen en la conservación y circulación del agua a través del suelo, la fertilidad, facilidad de laboreo, aireación, el desarrollo radicular, la actividad microbiana, la sensibilidad a la erosión....La densidad es una medida indirecta de la estructura y el grado de compactación del suelo. El pH mide la acidez o alcalinidad del suelo. Afecta a la movilidad y disponibilidad de elementos traza y nutrientes, así como a la actividad biológica y la alteración mineral. La salinidad es medida mediante la conductividad eléctrica. Las sales son necesarias para el crecimiento pero elevadas concentraciones lo inhiben por toxicidad directa o porque el alto potencial osmótico induce una deficiente absorción del agua por la vegetación. El carbono orgánico indica la cantidad de materia orgánica del suelo, un componente clave que afecta a todas las funciones del suelo. La cantidad y disponibilidad de nutrientes vegetales (N, P y K, principalmente) se relaciona directamente con la fertilidad y función productiva del suelo, ya que las plantas necesitan estos elementos en concentraciones adecuadas para su desarrollo. Igualmente, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) se relaciona con fertilidad y productividad, porque determina la capacidad del suelo de retener y conservar los nutrientes disponibles para las plantas (Ca, Mg y K, principalmente). Por último, en el contexto de suelos contaminados fitogestionados, la medida de cantidad y biodisponibilidad de elementos traza es esencial para evaluar el grado de toxicidad del suelo y riesgo de lixiviación, así como su corrección mediante las técnicas de fitogestión.

El análisis de estos indicadores permitió establecer las condiciones iniciales de los emplazamientos contaminados/degradados y monitorizarlas a lo largo del Proyecto. Los resultados tuvieron un carácter transversal en el Proyecto ya que fueron utilizados para hacer la evaluación de riesgos (inicial y final, GT1), relacionarlas con la biodiversidad y otras propiedades biológicas del suelo (GT2), analizar el comportamiento de los elementos traza en el sistema suelo-planta y valorar la eficacia de las alternativas de fito-gestión aplicadas (GT3) y evaluar el grado de recuperación de la funcionalidad del suelo después de la fitogestión (GT4).

Tabla 2. Parámetros físico-químicos básicos establecidos para crear una base de datos armonizada en el Proyecto PhytoSUDOE.

Parameter	Reference method
Soil structure and bulk density	Field and lab description, cylinder method
Water Content and water holding capacity	Water content is gravimetrically measured after drying a sample of air-dried soil (fine earth sieved through a 2 mm mesh) at 105°C until their weight is constant.
Soil pH	pH measured in suspension with H ₂ O (pH _w), 0.01 mol CaCl ₂ (pH _{Ca}) or 0.1 M KCl (pH _K) using a 1:2.5 soil:solution ratios
Soluble Salts	Extraction by water at 1:2.5 soil:H ₂ O ratio (or 1:5). Measurement of the total salt concentration of the extract (electric conductivity).
Particle Size Analysis Soil texture	<p>Particle size distribution (< 2-mm fine earth fractions) is measured by the pipette method. Soil samples are previously treated (H₂O₂, HCl) and then dispersed in water with calgon. Five fractions are separated: coarse sand (0.5-2 mm), fine sand (0.05-0.5 mm), coarse silt (20-50 microns), fine silt (20-2 μm) and clay (<2 μm). Sand fractions are obtained by sieving while fractions of silt and clay are obtained by sedimentation and gravimetrically using the pipette of Robinson.</p> <p>Textural classification using the textural triangle. The texture can also be obtained in the field approximated by describing the behavior of a sample in hand.</p>
Total C and N	Total C and N contents will be measured in finely milled samples (<50 μm) using a simultaneous elementary analyzer by dry combustion. Total C (C _T) can be considered equivalent to organic C if there is no carbonates.
Carbonates	Soil pH between approximately 7.5 and 8.5 indicate the presence of carbonates. A higher pH (towards 10) can indicate the presence of sodium carbonate. A rapid test with a 10% hydrochloric acid solution produces effervescence. Carbonates can be measured quantitatively by calcimetry (Scheibler method). Alternatively, they can be measured by LECO elemental analyzer after acid attack.
Extractable P	Extraction with Olsen's NaHCO ₃ method. Colorimetric determination of extracted P.
pH-NaF	Measurement of the pH of a soil suspension with 0.1 M NaF solution (ratio 1: 2.5, solution pH 7.4-7.6) after 0, 2 , 10 and 30 min minutes of reaction.
Cation Exchange Capacity at Soil pH	Method 1 (Cobalti-Hexamine method): Determination (AAS or ICP-OES) of exchangeable cations (Ca, Mg, K, Na, Al) after extraction with unbuffered cobalti-hexamine chloride. The CEC is calculated by the

	<p>difference between the quantity of Co added and the quantity remaining in solution after extraction. Results are expressed in $\text{cmol } (+) \text{ kg}^{-1}$</p> <p>Method 2: Determination of exchangeable base cations (Na, K, Mg and Ca; AAS or ICP-OES) after extraction with unbuffered 1 M NH_4Cl. Determination of exchangeable acidic cations (H^+ (acid-base titration) and Al) using unbuffered 1 M KCl solution. Effective cation exchange capacity (eCEC) is calculate by summation: $\text{ECEC (cmol } (+) \text{ kg}^{-1}) = [\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+} + \text{K}^+ + \text{Na}^+] + [\text{H}^+ + \text{Al}^{3+}]$</p>
<p>Total trace elements</p>	<p>Soils digestion (finely milled samples, $<50 \mu\text{m}$) with a 3:1 mixture of concentrated HNO_3:HCl in Teflon PFA vessels in a microwave oven after H_2O_2 pretreatment (EPA method 3050B). Metal concentration analysis in the filtered supernatants by AAS or ICP-OES. Metal concentrations are expressed in mg kg^{-1} dry weight (DW) soil.</p> <p>Standard Reference Materials:</p> <ul style="list-style-type: none"> • NIST 2711-Montana Soil, NIST 2782-Industrial sludge, NIST-1633b-coal fly ash • Candian Certified Reference Materials Project-Reference soil SO2 and SO3 • WEPAL-ISE (International Soil-Analytical Exchange, Wageningen University)- Rendzina Soil, ISE sample 979
<p>Bioavailable TE</p>	<p>Non-exahustive chemical extractions:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Water extractable metals, 1:2.5 (or 1:5) soil:water ratio, 30 min shaking • NH_4NO_3, 1:5 soil:extractant ratio, 2 h shaking • EDTA (0.05 M, pH 4.6), 1:5 soil:extractant ratio, 2 h shaking

IV.2. Dinámica de la materia orgánica del suelo

La materia orgánica del suelo (SOM)

La SOM es un componente clave en el funcionamiento del suelo. Está formada por cantidades variables de restos de plantas y animales, microorganismos, materia orgánica en descomposición (activa) y materia orgánica estable (humus). La SOM es un componente dinámico y heterogéneo que varía por su tamaño de partícula, contenido de C, tasa de descomposición y tiempo de reciclado. El carbono orgánico es la fuente de energía para los microorganismos del suelo y su biodisponibilidad está relacionada con la fracción SOM en la que reside. Así, la MOS puede ser fraccionada por el tamaño de partícula y velocidad de descomposición (Tabla 3). Las tres primeras fracciones son parte de la fracción activa, fácilmente descomponibles.

Tabla 3. Tamaño y tasas de descomposición de distintas fracciones de materia orgánica

Fracción	Tamaño (mm)	Tiempo reciclado, años	Descripción
Restos de plantas	>2.00mm	<5	Restos vegetales reconocibles
Mat. org. particulada	0.06-2.00	<100	Restos parcialmente descompuestos
Biomasa microbiana	Variable	<3	Microorganismos vivos (bacterias y hongos, principal.)
Humus	<0.0053	<100-5000	Último estado de descomposición, compuestos estables

Factores que afectan

La cantidad y calidad de SOM es el resultado de un equilibrio dinámico entre entradas y salidas. Cuando entradas y salidas se igualan, se alcanza un estado estacionario. El clima, la textura del suelo, la mineralogía de la arcilla, la topografía y el tiempo son los factores principales que afectan a este equilibrio. Las condiciones climáticas (precipitación y la temperatura) y la humedad y la aireación del suelo (niveles de oxígeno) influyen sobre velocidad de su descomposición, siendo más rápida en climas cálidos y húmedos y cuando el suelo está bien aireado. Pero esas mismas condiciones favorecen el crecimiento vegetal y, por tanto, el aporte de biomasa. Los suelos ricos en arcilla, aluminio y minerales de baja cristalinidad protegen a la SOM de la descomposición microbiana porque forman uniones órgano-minerales y favorecen la agregación de las partículas. Factores topográficos, como la pendiente o la altitud, influyen sobre la erosión y la temperatura, y, por tanto, sobre la pérdida y velocidad de descomposición, respectivamente. Con el tiempo, los procesos de evolución de la materia orgánica producen humus, que un componente relativamente estable que resiste la descomposición microbiana. Además, el tipo de vegetación condiciona fuertemente el tipo y cantidad de MOS. Los suelos bajo praderas llegan a tener más del doble de materia orgánica que bajo vegetación forestal, porque la biomasa aérea y de las raíces de las gramíneas mueren en cada temporada de crecimiento, agregando materia orgánica a la superficie del suelo. Las especies arbóreas producen menos masa de raíces por unidad de superficie y no mueren y se descomponen anualmente.

Relación con las funciones del suelo

La MOS es un componente clave en todas las funciones del suelo. Es una fuente de nutrientes para las plantas, de energía y nutrientes para los microorganismos del suelo, facilita la agregación de las partículas y mejora la estructura del suelo, aumenta la capacidad de retención de agua disponible e infiltración, aumenta la resistencia a la compactación y la capacidad de amortiguación, inactiva los contaminantes, mejora la calidad del agua y actúa como un sumidero de carbono. La SOM tiene un efecto directo sobre la biodiversidad del suelo, aumentando así el control biológico de enfermedades y plagas de las plantas.

Métodos e interpretación

El proyecto PhytoSUDOE armonizó un protocolo para evaluar la dinámica de la MOS a largo plazo y dilucidar los mecanismos de estabilización de C en los emplazamientos fitogestionados. Este protocolo incluye el análisis de carbono orgánico total y de fracciones orgánicas con diferentes grados de estabilidad: desde formas lábiles y reactivas, importantes en procesos biológicos y ciclos de nutrientes, hasta formas muy estables, que persisten en el suelo durante un tiempo largo tiempo.

Para ello se utilizaron métodos clásicos, ampliamente discutidos. El **carbono orgánico total** se analizó por combustión con analizador CHN (LECO Corp., St Joseph, MI), restando la fracción carbonato, en el caso pertinente. El **carbono lábil** (soluble) se extrajo en agua caliente siguiendo el protocolo de Ganhi et al. (2003) que consiste en una extracción secuencial de C soluble en agua fría, primero, y a 80 °C durante 16 h, después. El **carbono reactivo** se determinó por oxidación con KMnO_4 (Blair et al. (1995), reactivo químico que imita la descomposición enzimática de MOS, que es en gran medida un proceso oxidativo. Se realizó un fraccionamiento del carbono en **hidrolizable** y **no hidrolizable** mediante el procedimiento

de hidrólisis ácida, descrito por Silveira et al. (2008). Finalmente, la materia orgánica asociada con las **fracciones húmicas** y **organo-minerales** se estimó a partir de carbono extraíble con pirofosfato sódico, un método que extrae una gran cantidad de material húmico (Steveson, 1994).

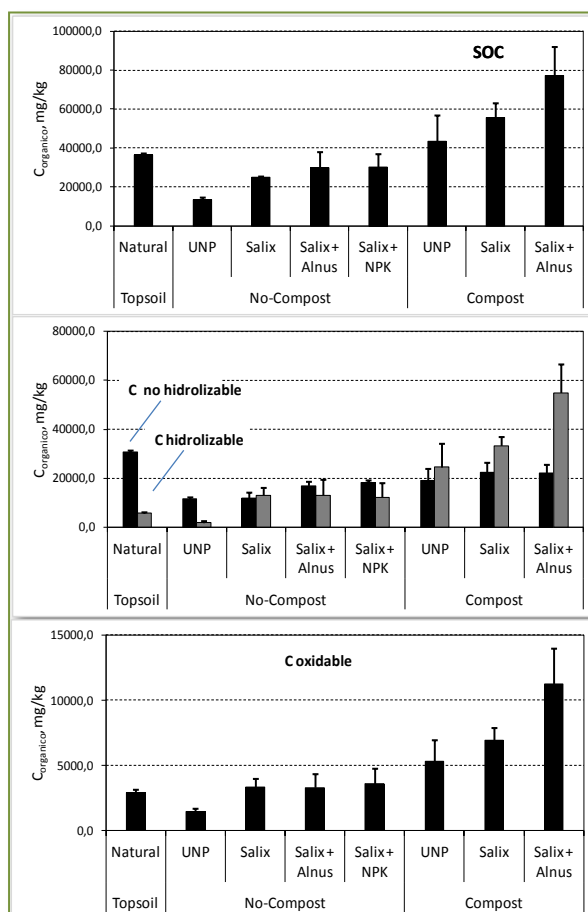


Fig. 2 Carbono orgánico del suelo total (SOC) y fracciones de distinta labilidad en el emplazamiento fitogestionado PhytoSUDOE.S7. Monterroso y Kidd ©

Mejoras inducidas por técnicas de fitogestión

En el proyecto PhytoSUDOE, se utilizaron distintas estrategias (aplicación de enmiendas del suelo, distintos patrones de cultivo, inoculación de las plantas,..) para aumentar la efectividad de las opciones de fitogestión. En algunos ensayos a medio-largo plazo se constató que la combinación de enmienda del suelo/crecimiento vegetal mejoraba sustancialmente la dinámica de la SOM e incrementaba su contenido lo largo del tiempo. Por ejemplo, en suelos de mina contaminados con cobre se acumuló más de 100 g C kg⁻¹ de suelo después de 6 años de fitogestión con la aplicación de compost y la siembra de gramíneas, con una contribución muy importantes de la fracción orgánica recalcitrante (no hidrolizable). El cultivo mixto con especies leguminosas también tuvo un efecto muy positivo sobre la calidad y cantidad de SOM, acumulándose más de 80 g C kg⁻¹ en un emplazamiento contaminado con Zn/Pb/Cd fitogestionado con *Salix sp.* en cultivo mixto con *Alnus glutinosa* (Figura 2). En este caso, las fracciones orgánicas hidrolizables y oxidables fueron las que más aumentaron, pero también fue evidente el aumento de la fracción no hidrolizable, mostrando un proceso activo de estabilización de SOM. Estos resultados son notables, ya que confirman que las estrategias de fitogestión cuidadosamente aplicadas promueven la acumulación de SOM y el secuestro de carbono a largo plazo.

IV.3. Fertilidad del suelo y ciclado de nutrientes

Los nutrientes del suelo

Nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) son, normalmente, los nutrientes más limitantes para la producción vegetal y para otras funciones del ecosistema edáfico. Las plantas necesitan estos elementos en cantidades elevadas (macronutrientes), por lo que requieren niveles adecuados en el suelo. Los nutrientes estimulan el crecimiento y vigor de la planta, su madurez, floración y fructificación y el uso eficiente del agua. El P, además, permite el almacenamiento y la transferencia de la energía producida por la fotosíntesis. Los nutrientes se mueven en el suelo en distintas formas y a través de distintos procesos, la mayoría mediatizados por microorganismos, dando lugar a los ciclos biogeoquímicos. Algunas de estas formas son disponibles para la planta y otras no. La deficiencia de nutrientes retrasa el crecimiento vegetal y restringe el uso de la energía y el agua.

Factores que afectan

Propiedades del suelo, como drenaje, textura, porosidad, pH, mineralogía y pendiente, afectan a los procesos de transporte y transformación de los nutrientes y limitan su disponibilidad para los cultivos o aumentan su potencial de pérdida. Factores climáticos, como precipitación y temperatura, y las condiciones del sitio, como la humedad del suelo, la aireación y la salinidad, afectan a la tasa de mineralización de los nutrientes a partir de la descomposición de la materia orgánica, siendo más favorable en clima cálido y húmedo que en el fresco y seco, y en suelos bien aireados. Condiciones de mal drenaje y encharcamiento favorecen la desnitrificación, lo

que provoca la pérdida de N en forma gaseosa y la liberación de gases de efecto invernadero. Elevados niveles de nutrientes en forma soluble (especialmente nitrógeno) y buen drenaje favorece su lixiviación hacia ríos y aguas subterráneas, generando riesgos de eutrofización. El pH del suelo entre 6.0 a 7.5 es, en general, óptimo para la disponibilidad de los nutrientes para las plantas. En condiciones ácidas, se reduce la disponibilidad (y movilidad) de P por su fijación en compuestos de aluminio y hierro del suelo. En condiciones alcalinas también se reduce por fijación con el Ca y, además, el amonio (NH_4^+) se transforma en amoníaco (NH_3), que puede ser volatilizado. Procesos de erosión y escorrentía también pueden generar pérdidas de nutrientes del suelo.

Relación con las funciones del suelo

Los nutrientes tienen la función clave de aportar elementos esenciales para la nutrición y crecimiento de las plantas y de los microorganismos del suelo. Los nutrientes estimulan el crecimiento, actividad y biodiversidad microbiana, lo que permite las transformaciones entre distintas formas de los elementos a lo largo de los ciclos biogeoquímicos del suelo (incluyendo el ciclo del carbono). Algunas de estas formas son gases con efecto invernadero (p.ej. N_2O , CO_2) que pueden ser emitidas a la atmósfera bajo determinadas circunstancias.

Métodos e interpretación

El proyecto PhytoSUDOE armonizó un protocolo para evaluar el efecto inducido por las prácticas de fitogestión sobre la fertilidad actual y potencial, el riesgo de lixiviación y el grado de restablecimiento de los ciclos de nutrientes (N, P y K) en los suelos tratados. Este protocolo incluye el análisis del contenido total de los nutrientes y de formas asociadas a distintos componentes edáficos: desde formas solubles, fácilmente lixiviables y rápidamente disponibles para plantas y microorganismos, hasta formas muy estables, que persisten en el suelo y se liberan lentamente, constituyendo la fertilidad potencial.

Para ello se utilizaron métodos clásicos, ampliamente contrastados. Las formas solubles fueron extraídas en medio acuoso (relación 1:5, suelo:agua, p:v) y analizadas por cromatografía iónica (NO_3^-), colorimetría por complejo fosfo-molibdico (PO_4^{3-}) y por absorción atómica de llama (K^+). Las formas biodisponibles a corto-medio plazo fueron estimadas a partir de extracciones simples con disoluciones salinas desplazantes. Así el nitrógeno (formas nitrato y amonio, NO_3^- y NH_4^+) fue extraído con KCl 1M, el P con HNaCO_3 (P Olsen) y el K con NH_4Cl 1M. Para el nitrógeno se estimó, además, el N potencialmente mineralizable (NPM), por incubación anaerobia del suelo durante 7 días a 40°C (Keeney and Bremner, 1966), y el N total, por combustión con analizador LECO-CHN. Finalmente, para el fósforo se aplicó un fraccionamiento secuencial que permite cuantificar formas operacionalmente definidas (Hedley et al., 1982): P inorgánico disponible (extraído con agua y retenido en una resina aniónica, resin-P_i); fósforo lábil adsorbido a coloides del suelo (extraído con NaHCO_3); P moderadamente lábil ligado a superficies de oxi(hidróxi)dos de hierro y aluminio (extraído con NaOH); P fuertemente ligado a superficies internas del suelo (extraído con NaOH y sonicación); P inorgánico ligado a minerales tipo apatito (HCl-P) y P residual (extracción ácida en microondas).

Mejoras inducidas por técnicas de fitogestión

La deficiencia de nutrientes fue una de las principales limitaciones para el establecimiento vegetal en los suelos degradados y/o contaminados, lo que condiciona el éxito de las alternativas de fitogestión. En el proyecto PhytoSUDOE, se utilizaron distintas estrategias para mejorar la fertilidad del suelo y el crecimiento vegetal, como la aplicación de fertilizantes y enmiendas orgánicas, el intercalado de plantas leguminosas con los cultivos de interés y la inoculación de las plantas. En algunos ensayos a medio-largo plazo se constató que la aplicación de enmiendas orgánicas incrementaba sistemáticamente el contenido de distintas formas de N, K y P, biodisponibles a corto, medio y largo plazo, y mejoraba el sustancialmente el crecimiento de los cultivos y la actividad biológica del suelo, lo que a su vez generaba un efecto positivo sobre el restablecimiento de los ciclos biogeoquímicos (Fig. 3). En comparación, la fertilización mineral (NPK) era menos eficiente porque introducía altas cantidades de nutrientes fácilmente disponibles y potencialmente lixiviables (p.ej. elevados contenidos de nitrato soluble) y no generaba fertilidad potencial (p.ej. bajos contenidos de N potencialmente mineralizable). La combinación de enmienda orgánica y cultivo intercalado con leguminosas fue una de las estrategias más eficientes desde el punto de vista de la fertilidad del suelo, desarrollo vegetal y restablecimiento de ciclos biogeoquímicos.

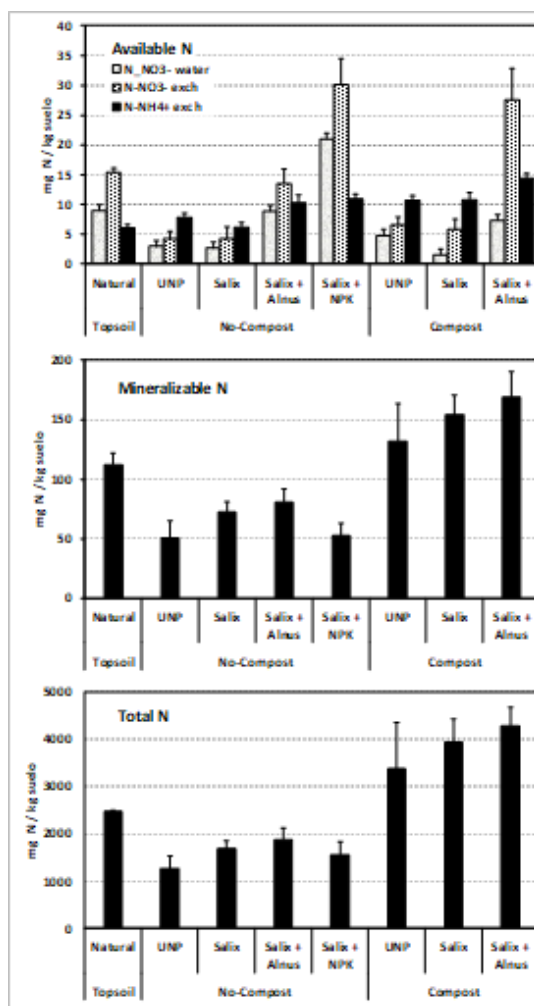


Fig. 3. Nitrógeno total, mineralizable y disponible (soluble en agua y cambiante) en el emplazamiento S7 del Proyecto phytoSUDOE. Valores medios \pm SE (n=3)

IV.4. Biodisponibilidad y fraccionamiento de elementos traza

Los elementos traza en el suelo

Se denomina elementos traza a un conjunto de metales pesados y metaloides de elevada masa atómica (>5 g/cm³) como Pb, Cd, Cu, Hg, Sn y Zn, que aparecen, generalmente, en baja concentración en el suelo y pueden provocar toxicidad. Junto a ellos también se consideran otros no-metales como arsénico (As), antimonio (Sb) y selenio (Se). Algunos de ellos son micronutrientes esenciales para plantas animales y humanos, pero son tóxicos a elevadas concentraciones. Entre ellos, Zn, Ni, Co y Cu son relativamente más tóxicos a plantas y As, Cd, Pb, Cr, Hg lo son para animales. Los ET son los contaminantes más persistentes y complejos para remediar en la naturaleza, por su naturaleza no biodegradable y acumulable en los organismos vivos. Degradan la calidad de la atmósfera, suelos, aguas y cadena alimentaria y amenazan el bienestar animal y humano. La principal fuente natural de ET al suelo es la alteración de los minerales del material original del suelo. Las principales fuentes antropogénicas son la minería, industria, vertido de residuos, escapes de gasolina y pinturas, aplicación de fertilizantes, estiércoles, lodos de depuradora, pesticidas y deposición atmosférica.

Los ET se encuentran en el suelo en distintas formas con distintos grados de labilidad y disponibilidad para ser usados los organismos vivos (biodisponibilidad), que se encuentran en un equilibrio dinámico. En general, los efectos biológicos no están relacionados con su concentración total, sino con las fracciones móviles/biodisponibles. La biodisponibilidad es, entonces, el factor clave a tener en cuenta en las evaluaciones de riesgo y rehabilitación de las funciones edáficas.

Factores que afectan

La biodisponibilidad de los ET depende de la naturaleza del metal, las propiedades del suelo, la interacción con los coloides del suelo y diversos procesos físicos, químicos y biológicos que interactúan de forma compleja y varían con el tiempo. El pH del suelo, potencial redox, textura, contenido y tipo de arcilla y materia orgánica, óxidos de Fe/Al/Mn, carbonatos, capacidad de intercambio catiónico, composición de la disolución del suelo (incluido el carbono orgánico disuelto), son las propiedades del suelo que más influyen. Por otra parte, la actividad biológica afecta a la biodisponibilidad porque modifica muchas de las propiedades citadas (principalmente pH, carbono orgánico disuelto,..). Factores climáticos, como precipitación y temperatura, y las condiciones del sitio, como el drenaje, humedad del suelo y la aireación (nivel de oxígeno) y la salinidad, también influyen en la transformación y transporte de los ET. Elevados niveles de ET en formas solubles y buen drenaje favorece su lixiviación hacia ríos y aguas subterráneas, generando riesgos de contaminación de aguas. Lo mismo ocurre con los procesos de erosión y esorrentía.

Relación con las funciones del suelo

Bajas concentraciones de algunos ET (p.ej. Mn, Zn, Cu) son necesarios para las plantas. Niveles elevados de formas biodisponibles, son tóxicos para el desarrollo vegetal (por interferencia en distintos procesos celulares, principalmente) y, por tanto, tienen un efecto negativo sobre la función productiva del suelo. Igualmente, los ET afectan al crecimiento y actividad microbiana y, por tanto, a los procesos de ciclado de nutrientes a lo largo de los ciclos biogeoquímicos del suelo, incluyendo el ciclo del carbono.

Métodos e interpretación

La biodisponibilidad es un concepto ampliamente aceptado pero difícil de cuantificar, por lo que han proliferado un gran número de métodos, siendo muy escaso el nivel de estandarización. Se acepta que se puede evaluar por métodos químicos (p.ej., métodos de extracción), que determinan una fracción disponible operacionalmente definida, y/o por métodos biológicos, por exposición de los organismos al suelo o a sus lixiviados. La introducción de métodos estándar viables (internacionales) para la medida de movilidad/biodisponibilidad es la base para obtener resultados comparativos. El proyecto PhytoSUDOE armonizó un protocolo para evaluar el efecto inducido por las prácticas de fitogestión en los suelos contaminados tratados. Este protocolo incluye el análisis del contenido total de los ET y de formas asociadas a distintos componentes edáficos: desde formas solubles, fácilmente lixiviables y rápidamente disponibles para plantas y microorganismos, hasta formas muy estables. Para el contenido total de TE, se realizó una extracción exhaustiva en medio ácido (HNO_3 : HCl concentrado, relación 3: 1) en bombas de PFA de alta presión en horno microondas (ETHOS PLUS Milestone ATC-400) según el método EPA 3051A (el INRA utilizó adicionalmente FH para la completa disolución de silicatos). Además, se realizó un fraccionamiento operacionalmente definido mediante el protocolo de extracción secuencial BCR-modificado (Rauret et al., 2000). De este modo, se obtuvieron cuatro fracciones metálicas definidas operativamente: extraíbles con ácido (hidrosoluble+intercambiable+carbonato), reducibles (formas unidas al óxido de manganeso y hierro), oxidables (metales unidos a materia orgánica y sulfuros) y fracción residual (metales unidos a silicatos). En algunos casos, el procedimiento BCR se modificó para separar los metales intercambiables (extraídos con 1 M NH_4Cl durante 16 h) y los metales unidos a carbonato (extraídos con 0,11 M CH_3COOH durante 16 h). Finalmente, se realizó un seguimiento de la biodisponibilidad de los contaminantes del suelo mediante el análisis de la disolución del suelo (o extratos en agua) y extracciones simples no exhaustivas (1 M NH_4NO_3 , 1 M NH_4Cl y/o 0,05 M EDTA).

Mejoras inducidas por técnicas de fitogestión

La elevada biodisponibilidad de diversos ET generaba fitotoxicidad en diversos emplazamientos de la red phytoSUDOE, especialmente en los suelos derivados de actividades mineras. Para mejorar las condiciones edáficas y la eficiencia de las fitotecnologías, se utilizaron distintas prácticas agronómicas, como la aplicación de fertilizantes y enmiendas orgánicas, el intercalado de plantas leguminosas con los cultivos de interés y la inoculación de las plantas. La fertilización

mineral inducía una acidificación y, consecuente, aumento de la movilidad de los ET. La formulación de enmiendas a partir de distintos residuos (lodos de depuradora, compostados o no, residuos de papelera, cenizas de biomas, *biochar*, entre otros) fue una práctica común en busca de un beneficio múltiple (enmienda edáfica, valorización de residuos y su integración en los ciclos biogeoquímicos). Esta práctica tenía un marcado efecto sobre el fraccionamiento de los metales, con una reducción generalizada de la movilidad/biodisponibilidad de los ET (extraídos con $\text{H}_2\text{O NH}_4\text{NO}_3$), lo que se relacionó con el aumento del pH y de las superficies coloidales de adsorción (material orgánica y óxidos de Fe/Al, principalmente). En ocasiones, no obstante, incrementó el contenido potencialmente disponible (extraído en EDTA) de otros ET asociados a los residuos. Un control de calidad de los residuos utilizados en las enmiendas antes de su aplicación es necesario.

Tabla 4. Protocolo de análisis armonizado en el Proyecto PhytoSUDOE para el estudio de biodisponibilidad y fraccionamiento de metales en el suelo de los emplazamientos fitogestionados.

Parameter	
Total trace elements	<p>Soils digestion (finely milled samples, $<50 \mu\text{m}$) with a 3:1 mixture of concentrated $\text{HNO}_3\text{:HCl}$ in Teflon PFA vessels in a microwave oven after H_2O_2 pretreatment (EPA method 3050B). Metal concentration analysis in the filtered supernatants by AAS or ICP-OES. Metal concentrations are expressed in mg kg^{-1} dry weight (DW) soil.</p> <p>Standard Reference Materials:</p> <ul style="list-style-type: none"> • NIST 2711-Montana Soil, NIST 2782-Industrial sludge, NIST-1633b-coal fly ash • Candian Certified Reference Materials Project-Reference soil SO2 and SO3 • WEPAL-ISE (International Soil-Analytical Exchange, Wageningen University)- Rendzina Soil, ISE sample 979
Bioavailable TE	<p>Non-exhaustive chemical extractions:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Water extractable metals, 1:2.5 (or 1:5) soil:water ratio, 30 min shaking • NH_4NO_3, 1:5 soil:extractant ratio, 2 h shaking • EDTA (0.05 M, pH 4.6), 1:5 soil:extractant ratio, 2 h shaking
Soil metal fractionation	<p>A metal fractionation scheme can be carried out following a modified BCR protocol (Rauret et al 200). Metal fractions are sequential extracted as following:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Exchangeable fraction: 1 M NH_4Cl for 16 h 2. Carbonate-bound metal fraction: 0.11 M CH_3COOH for 16 h 3. Iron and manganese oxide bound forms (reducible): 0.10 M NH_2OH. HCl adjusted to pH 2.0 (with HNO_3) 4. Organically bound and sulphide metals (oxidisable fraction): treatment with 30% H_2O_2, taken to dryness on a water bath heated to 85°C, and shaken with 1 M NH_4OAc adjusted to pH 2.0 with HOAc for 16 h 5. Residual fraction (silicate-bound metals): digested with aqua regia ($\text{HCl:H}_2\text{NO}_3$ at ratio 3:1). <p>The concentration of metals are analysed in the filtered supernatants of each extraction by AAS or ICP-OES. All metal concentrations are expressed in mg kg^{-1} dry weight (DW) soil.</p>

IV.5. Propiedades físicas del suelo

Textura, estructura del suelo y estabilidad de los agregados, densidad aparente

Las partículas minerales (arena, limo y arcilla) son los bloques primarios de construcción del suelo. La proporción entre estas partículas define la textura, una propiedad inherente del suelo, poco variable. La **estructura** es la organización de partículas primarias en agregados, lo que genera un rico espacio poroso muy susceptible a cambio por el manejo del suelo. La **estabilidad de los agregados** se refiere a la resistencia de esos agregados a la ruptura cuando son sometidos a fuerzas externas (generalmente asociadas al agua o al viento). Los cambios en la estabilidad de agregados pueden servir como indicador de la recuperación o degradación del suelo. La **densidad del suelo** es un indicador relacionado con textura y estructura, buen indicador de la compactación y de la capacidad del suelo para las funciones de soporte estructural, movimiento del agua y aireación.

Factores que afectan

La cantidad y tipo de arcillas y de materia orgánica, cationes adsorbidos, como calcio o sodio, y contenido en óxidos de hierro y aluminio son factores principales que afectan a la estructura y estabilidad de agregados. Calcio, magnesio, hierro y aluminio estabilizan los agregados, por cementación o por formación de puentes con la materia orgánica, mientras que el sodio promueve la dispersión de las partículas. Efectos importantes también son inducidos por la expansión y contracción que sufren las arcillas por cambios de humedad. La formación y estabilidad de agregados generalmente aumenta con el contenido en materia orgánica y la actividad biológica. La ingesta de partículas de suelos por lombrices, el desarrollo de las raíces y la producción de productos orgánicos cementantes de origen biológico (hongos y bacterias, principalmente) son algunos de los procesos biológicos que más influyen.

Factores climáticos, como precipitación (cantidad e intensidad) y temperatura, y las condiciones del sitio, como los ciclos de humectación/secado y de congelación/descongelación, afectan directamente a la formación de agregados y zonas de debilidad estructural.

Relación con las funciones del suelo

La estructura se relaciona directamente con importantes funciones del suelo, como el mantenimiento de la productividad biológica, la regulación y reparto del agua y los solutos y el ciclado y conservación de los nutrientes. La estructura es clave en esas funciones por su influencia sobre la porosidad, la conservación y movimiento del agua y el aire, la exploración radicular y el habitat para organismos del suelo. La esta estabilidad de los agregados determina, además, la susceptibilidad a la erosión.

Métodos e interpretación

El proyecto PhytoSDOE armonizó un protocolo para evaluar las mejoras inducidas por la fitogestión sobre las condiciones físicas del suelo en los emplazamientos de la red. Este protocolo incluye la descripción de la macro-estructura en campo, el análisis en laboratorio y la

estima a partir de otras propiedades del suelo aplicando modelos predictivos. La macroestructura fue descrita en campo siguiendo la guía de descripción de suelos de la FAO (2006). La estabilidad de los agregados se determinó en laboratorio de acuerdo con el método de tamizado en húmedo descrito por Kemper e Rosenau (1986), que evalúa la estabilidad de los agregados de tamaño 1-2 mm. La densidad (peso seco del suelo por unidad de volumen, g/cm^3) fue determinada experimentalmente mediante el método del cilindro. La capacidad de retención de agua se determinó gravimétricamente después del encharcamiento, drenaje y secado de un volumen conocido de suelo inalterado, siguiendo el protocolo propuesto por Zhang Yuandong et al. (2006). De forma paralela, se hizo una estima la densidad aparente y la capacidad de retención de agua a partir de las principales propiedades de las que depende aplicando los modelos propuestos por Rawls (1983) y Martínez Cortizas (1988), respectivamente.



Mejoras inducidas por técnicas de fitogestión

Junto con la deficiencia de nutrientes y la presencia de contaminantes, las texturas inadecuadas y la falta de estructura del suelo fueron los limitantes más importantes del desarrollo vegetal en los emplazamientos degradados/contaminados de la red PhytoSUDOE. Los suelos arcillosos sin estructura tenían una reducida infiltración y eran susceptibles a la compactación, la escorrentía, la erosión y la formación de costras superficiales. Estos procesos generaban pérdidas de suelo y nutrientes, reducían la germinación y degradaban la calidad de las aguas. Por el contrario, en los suelos arenosos el agua se infiltraba y drenaba rápidamente y no eran capaces de retener el agua necesaria para el desarrollo biológico. La aplicación de enmiendas orgánicas y el desarrollo de los cultivos generaron un efecto muy positivo sobre las condiciones físicas del suelo. El uso de enmiendas orgánicas favoreció la formación de agregados estables y aumentó la porosidad y la capacidad de retención de agua, permitiendo el establecimiento de los cultivos. Una mejora adicional fue obtenida tras el desarrollo vegetal, gracias al crecimiento de las raíces y el aporte de la biomasa. En conjunto, las técnicas de fitogestión mejoraron la agregación, redujeron la compactación y la densidad del suelo, y aumentaron su porosidad y de la capacidad de retención de agua, recuperando las características de los suelos naturales del entorno. La combinación de aplicación de compost y cubierta vegetal (distintos patrones de cultivo) fue una de las estrategias más exitosas desde este punto de vista.

IV.6. La disolución del suelo: retención de agua y filtración

La disolución del suelo

La **fase líquida o disolución del suelo** corresponde al agua retenida en los poros del suelo que tiene tiempos de interacción con la fase sólida del suelo suficientemente largos como para alcanzar situaciones de "equilibrio" parciales o locales, dentro de la situación global de "no-equilibrio" característica de un sistema abierto como el suelo. Su estudio es de especial importancia ya que juega un papel primordial en muchos procesos y es el componente que más rápidamente refleja los cambios en las condiciones y dinámica del suelo. La disolución del suelo es la fuente inmediata de nutrientes para plantas y microorganismos y refleja, por tanto la fertilidad del suelo. Igualmente, la composición de la disolución del suelo afecta de forma directa a la composición de las aguas de drenaje, permite predecir la posible lixiviación de elementos no deseados hacia las aguas naturales y es un elemento clave en la evaluación de riesgos.

Factores que afectan

La composición de la disolución del suelo depende de muchos factores, tales como la naturaleza de los componentes sólidos con los que está en contacto, cantidad y distribución de la precipitación, grado de drenaje, temperatura, tiempo de contacto líquido-sólido, concentración de CO₂, pH, potencial redox, naturaleza de la vegetación, grado de cobertura, actividad biológica del suelo, etc. Las propiedades del suelo y del sitio, como el drenaje, la textura, la porosidad, y la pendiente, afectan a los procesos de transporte y limitan la disponibilidad para los cultivos o aumentan el potencial de pérdida. Factores climáticos, como precipitación y temperatura, y las condiciones del sitio, como la humedad del suelo y la aireación afectan a los procesos biológicos y a la velocidad de alteración mineral. En ambientes de elevada precipitación atmosférica y buen drenaje los productos de alteración mineral son rápidamente eliminados del suelo por lavado, por lo que la disolución del suelo se caracteriza por una elevada dilución, con muy bajos contenidos iónicos. Sin embargo, las disoluciones de suelos mina, y otros suelos degradados, afectados por la oxidación de sulfuros, pueden presentar elevadas concentraciones de Fe y SO₄²⁻ y, en ausencia de materiales neutralizantes, el pH puede descender a valores extremadamente ácidos. La acidez generada durante la oxidación puede actuar como un agente de alteración, favoreciendo la disolución de otros componentes del suelo y aumentando, por tanto, las concentraciones iónicas.

Relación con las funciones del suelo

La disolución del suelo está relacionada con funciones tan importantes como la producción de biomasa y la filtración. La disolución del suelo juega un papel primordial en muchos procesos edáficos y es el componente que más rápidamente refleja los cambios en las condiciones y dinámica del suelo. A través de ella se producen los principales procesos de hidrólisis, oxidación, lavado, translocación, etc, que van cambiando las propiedades del suelo y lo hacen evolucionar en una determinada dirección, controlando, por tanto, el desarrollo edafológico. Es la fuente inmediata de nutrientes para plantas y microorganismos, lo que permite evaluar el estado nutritivo del suelo, y es particularmente adecuada para el seguimiento de los efectos de

las distintas enmiendas edáficas . Además, en sistemas contaminados, el suelo es la primera y más importante barrera frente a la lixiviación de elementos tóxicos a las aguas subterráneas, así que el estudio geoquímico de su disolución permite diagnosticar el riesgo de transferencia de la contaminación de aguas.

Métodos e interpretación

A pesar del gran interés e información derivada del estudio de la disolución del suelo, su seguimiento es complejo por la dificultad de su extracción en condiciones inalteradas. El uso de extractos acuosos puede ser una alternativa sencilla para predecir algunas características de la disolución de suelos. Para evaluar los cambios inducidos por las tareas de fitogestión sobre la composición de la disolución del suelo, en el marco del proyecto PhytoSUDOE, se realizó una extracción (fracción <2mm) con agua empleando una relación 1:5 (p:v) y 24 h de tiempo de contacto para alcanzar el equilibrio. En la disolución obtenida se realizaron de forma inmediata las determinaciones de pH (electrodo combinado de pH), Eh (electrodo combinado de potencial redox con elementos de Pt y referencia Ag/AgCl) y conductividad eléctrica (célula de conductividad y compensación de temperatura). Posteriormente la disolución del suelo fué filtrada por 0.45 µm y se realizaron los siguientes análisis: SO_4^{2-} , NO_4^- y Cl^- por cromatografía iónica con supresión química y detector de conductividad (cromatógrafo Dionex 2000); F^- con electrodo ion selectivo (Orion 94-09) y utilizando TISAB IV como ajustador de la fuerza iónica; PO_4^{3-} por colorimetría con molibdato amónico/ácido ascórbico, medida de la absorbancia a 850 nm del complejo azul fosfomolibdico desarrollado; NH_4^+ con electro ion selectivo Orion 95-10 y utilizando NaOH como ajustador del pH; *Ca, Mg, Na, K, Fe, Al, Mn, Zn, Ni, Co, Cu, Cd y Pb* por espectrometría de emisión atómica de plasma (ICP-AES).

Mejoras inducidas por técnicas de fitogestión

El análisis de la disolución del suelo reflejaba el efecto de los distintos tratamientos utilizados en proyecto PhytoSUDOE (aplicación de fertilizantes y enmiendas orgánicas, el intercalado de plantas leguminosas con los cultivos de interés y la inoculación de las plantas).

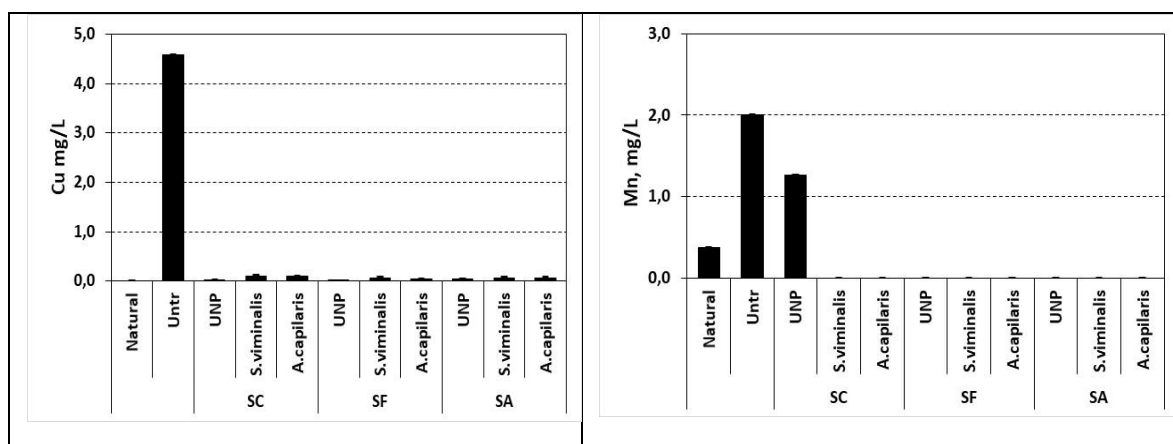


Figura 5. Efecto de las tareas de fitogestión sobre la movilidad de los contaminantes: valores medios y desviación estandar (n=3) de la concentración de Cu y Mn soluble en la fase líquida del suelo (porewater) en S8 en función de las tareas de fitogestión (Unt=no tratado, UNP=no plantado, SC, SF y SA = enmiendas orgánicas formuladas a partir de residuos.).

La eficiencia de las estrategias de fitoestabilización en suelos contaminados con elementos traza, quedaba reflejada en la reducción de la movilidad de los contaminantes inducida por la combinación de enmiendas del suelo y desarrollo de cubiertas vegetales con fenotipos vegetales excluidores de los metales presentes (Fig.5). Igualmente, la disolución del suelo reflejaba rápidamente el efecto que tenía fertilización mineral sobre el descenso de pH, el aumento de la salinidad y la movilización de metales asociados a carbonatos.

1 References

- Afzal M, Khan QM, Sessitsch A (2014) Endophytic bacteria: Prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants *Chemosphere* 117:232-242 doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.078>
- Agnello AC, Bagard M, van Hullebusch ED, Esposito G, Huguenot D (2016) Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation, phytoremediation, bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation *Sci Total Environ* 563-564:693-703 doi:10.1016/j.scitotenv.2015.10.061
- Alkorta I, Becerril JM, Garbisu C (2010) Phytostabilization of metal contaminated soils *Reviews on environmental health* 25:135-146
- Bardos P (2014) Progress in Sustainable Remediation *Remediation* 25:23-32 doi:doi:10.1002/rem.21412
- Bardos RP, Bone BD, Boyle R, Evans F, Harries ND, Howard T, Smith JW (2016) The rationale for simple approaches for sustainability assessment and management in contaminated land practice *Sci Total Environ* 563-564:755-768 doi:10.1016/j.scitotenv.2015.12.001
- Barrutia O, Artetxe U, Hernández A, Olano JM, García-Plazaola JI, Garbisu C, Becerril JM (2011) Native plant communities in an abandoned Pb-Zn mining area of Northern Spain: Implications for phytoremediation and germplasm preservation *Int J Phytoremediation* 13:256-270 doi:10.1080/15226511003753946
- Bascomb, C. (1968). Distribution of pyrophosphate-extractable iron and organic carbon in soils of various groups. *Journal of Soil Science*, 19(2), pp.251-268.
- Batty LC (2005) The potential importance of mine sites for biodiversity *Mine Water and the Environment* 24:101-103 doi:10.1007/s10230-005-0076-0
- Becerra-Castro C et al. (2013) Improving performance of *Cytisus striatus* on substrates contaminated with hexachlorocyclohexane (HCH) isomers using bacterial inoculants: Developing a phytoremediation strategy *Plant Soil* 362:247-260
- Benizri E, Kidd PS (2018) The Role of the Rhizosphere and Microbes Associated with Hyperaccumulator Plants in Metal Accumulation. In: Van der Ent A, Echevarria G, Baker AJM, Morel JL (eds) *Agromining: Farming for Metals: Extracting Unconventional Resources Using Plants*. Springer International Publishing, Cham, pp 157-188. doi:10.1007/978-3-319-61899-9_9
- Bhargava A, Carmona FF, Bhargava M, Srivastava S (2012) Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals *J Environ Manage* 105:103-120 doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.04.002>
- Blair, G. J., Lefroy, R. D., & Lisle, L. (1995). Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems. *Australian journal of agricultural research*, 46(7), 1459-1466.
- Bolan NS, Adriano DC, Kunhikrishnan A, James T, McDowell R, Senesi N (2011) Dissolved Organic Matter. *Biogeochemistry, Dynamics, and Environmental Significance in Soils* vol 110. doi:10.1016/B978-0-12-385531-2.00001-3

- Bünemann, E. K., Bongiorno, G., Bai, Z., Creamer, R. E., De Deyn, G., de Goede, R., ... & Pulleman, M. (2018). Soil quality—A critical review. *Soil Biology and Biochemistry*, 120, 105-125.
- Burges A, Alkorta I, Epelde L, Garbisu C (2018) From phytoremediation of soil contaminants to phytomanagement of ecosystem services in metal contaminated sites *Int J Phytoremediation* 20:384-397 doi:10.1080/15226514.2017.1365340
- Burges A, Epelde L, Benito G, Artetxe U, Becerril JM, Garbisu C (2016) Enhancement of ecosystem services during endophyte-assisted aided phytostabilization of metal contaminated mine soil *Sci Total Environ* 562:480-492 doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.04.080
- Burges A, Epelde L, Garbisu C (2015) Impact of repeated single-metal and multi-metal pollution events on soil quality *Chemosphere* 120:8-15 doi:10.1016/j.chemosphere.2014.05.037
- Chaney RL, Angle JS, Broadhurst CL, Peters CA, Tappero RV, Sparks DL (2007) Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies *J Environ Qual* 36:1429-1443 doi:10.2134/jeq2006.0514
- Clavé G, Garoux L, Boulanger C, Hesemann P, Grison C (2016) Ecological Recycling of a Bio-Based Catalyst for Cu Click Reaction: a New Strategy for a Greener Sustainable Catalysis *ChemistrySelect* 1:1410-1416 doi:doi:10.1002/slct.201600430
- Clemente R, Walker DJ, Pardo T, Martínez-Fernández D, Bernal MP (2012) The use of a halophytic plant species and organic amendments for the remediation of a trace elements-contaminated soil under semi-arid conditions *J Hazard Mater* 223–224:63-71 doi:10.1016/j.jhazmat.2012.04.048
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA (2005) Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects *Appl Environ Microbiol* 71:4951-4959 doi:10.1128/aem.71.9.4951-4959.2005
- Conesa HM, Evangelou MWH, Robinson BH, Schulin R (2012) A critical view of current state of phytotechnologies to remediate soils: Still a promising tool? *The Scientific World Journal* 2012:10 doi:10.1100/2012/173829
- Coninx L, Martinova V, Rineau F (2017) Mycorrhiza-Assisted Phytoremediation. In: *Advances in Botanical Research*, vol in press. Academic Press. doi:http://dx.doi.org/10.1016/bs.abr.2016.12.005
- Cundy AB et al. (2016) Brownfields to green fields: Realising wider benefits from practical contaminant phytomanagement strategies *J Environ Manage* 184:67-77 doi:10.1016/j.jenvman.2016.03.028
- Dary M, Chamber-Pérez MA, Palomares AJ, Pajuelo E (2010) “*In situ*” phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus* inoculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria *J Hazard Mater* 177:323-330 doi:10.1016/j.jhazmat.2009.12.035
- Deng Z, Cao L (2017) Fungal endophytes and their interactions with plants in phytoremediation: A review *Chemosphere* 168:1100-1106 doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.097

- Epelde L, Becerril JM, Alkorta I, Garbisu C (2014) Adaptive Long-Term Monitoring of Soil Health in Metal Phytostabilization: Ecological Attributes and Ecosystem Services Based on Soil Microbial Parameters *Int J Phytoremediation* 16:971-981 doi:10.1080/15226514.2013.810578
- Escande V, Olszewski TK, Grison C (2014) Preparation of ecological catalysts derived from Zn hyperaccumulating plants and their catalytic activity in Diels–Alder reaction *Comptes Rendus Chimie* 17:731-737 doi:https://doi.org/10.1016/j.crci.2013.09.009
- Evangelou MWH, Papazoglou EG, Robinson BH, Schulin R (2015) Phytomanagement: Phytoremediation and the Production of Biomass for Economic Revenue on Contaminated Land. In: Ansari AA, Gill SS, Gill R, Lanza GR, Newman L (eds) *Phytoremediation: Management of Environmental Contaminants, Volume 1*. Springer International Publishing, Cham, pp 115-132. doi:10.1007/978-3-319-10395-2_9
- Feng N-X et al. (2017) Efficient phytoremediation of organic contaminants in soils using plant–endophyte partnerships *Sci Total Environ* 583:352-368 doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.075
- Ghani, A., Dexter, M., & Perrott, K. W. (2003). Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil biology and biochemistry*, 35(9), 1231-1243.
- Goss MJ, Tubeileh A, Goorahoo D (2013) A review of the use of organic amendments and the risk to human health. In: *Advances in agronomy*, vol 120. Elsevier, pp 275-379
- Greiner, L., Keller, A., Grêt-Regamey, A., & Papritz, A. (2017). Soil function assessment: review of methods for quantifying the contributions of soils to ecosystem services. *Land Use Policy*, 69, 224-237.
- Haines-Young, R., & Potschin, M. (2009). Methodologies for defining and assessing ecosystem services.
- Keeney, D. R., & Bremner, J. M. (1966). Comparison and Evaluation of Laboratory Methods of Obtaining an Index of Soil Nitrogen Availability 1. *Agronomy journal*, 58(5), 498-503.
- Kidd P et al. (2009) Trace element behaviour at the root–soil interface: Implications in phytoremediation *Environ Exp Bot* 67:243-259 doi:10.1016/j.envexpbot.2009.06.013
- Kidd P et al. (2015) Agronomic practices for improving gentle remediation of trace element-contaminated soils *Int J Phytoremediation* 17:1005-1037 doi:10.1080/15226514.2014.1003788
- Kidd PS, Álvarez-López V, Becerra-Castro C, Cabello-Conejo M, Prieto-Fernández Á (2017) Chapter Three - Potential Role of Plant-Associated Bacteria in Plant Metal Uptake and Implications in Phytotechnologies. In: Cuypers A, Vangronsveld J (eds) *Advances in Botanical Research*, vol 83. Academic Press, pp 87-126. doi:https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.12.004
- Kumpiene J, Guerri G, Landi L, Pietramellara G, Nannipieri P, Renella G (2009) Microbial biomass, respiration and enzyme activities after *in situ* aided phytostabilization of a Pb- and Cu-contaminated soil *Ecotoxicol Environ Saf* 72:115-119 doi:10.1016/j.ecoenv.2008.07.002

- Lemanceau P, Maurhofer M, Défago G (2007) Contribution of studies on suppressive soils to the identification of bacterial biocontrol agents and to the knowledge of their modes of action. In: *Plant-Associated Bacteria*. Springer, pp 231-267
- Lenoir I, Lounes-Hadj Sahraoui A, Fontaine J (2016) Arbuscular mycorrhizal fungal-assisted phytoremediation of soil contaminated with persistent organic pollutants: a review *Eur J Soil Sci* 67:624-640 doi:10.1111/ejss.12375
- Madejón E, de Mora AP, Felipe E, Burgos P, Cabrera F (2006) Soil amendments reduce trace element solubility in a contaminated soil and allow regrowth of natural vegetation *Environ Pollut* 139:40-52 doi:10.1016/j.envpol.2005.04.034
- Marchand L, Mench M, Jacob DL, Otte ML (2010) Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements: A review *Environ Pollut* 158:3447-3461 doi:10.1016/j.envpol.2010.08.018
- MEA, M. E. A. (2005). *Ecosystems and Human Well-Being Scenarios*. Findings of the Scenarios Working Group.
- Mench M, Lepp N, Bert V, Schwitzguébel J-P, Gawronski S, Schröder P, Vangronsveld J (2010) Successes and limitations of phytotechnologies at field scale: outcomes, assessment and outlook from COST Action 859 *J Soils Sed* 10:1039-1070 doi:10.1007/s11368-010-0190-x
- Mench M, Renella G, Gelsomino A, Landi L, Nannipieri P (2006) Biochemical parameters and bacterial species richness in soils contaminated by sludge-borne metals and remediated with inorganic soil amendments *Environ Pollut* 144:24-31 doi:10.1016/j.envpol.2006.01.014
- Mench M, Schwitzguébel J-P, Schroeder P, Bert V, Gawronski S, Gupta S (2009) Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety *Environmental Science and Pollution Research* 16:876-900 doi:10.1007/s11356-009-0252-z
- Mench MJ, Dellise M, Bes CM, Marchand L, Kolbas A, Le Coustumer P, Oustrière N (2018) Phytomanagement and Remediation of Cu-Contaminated Soils by High Yielding Crops at a Former Wood Preservation Site: Sunflower Biomass and Ionome *Frontiers in Ecology and Evolution* 6 doi:10.3389/fevo.2018.00123
- Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers JM (2013) The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms *FEMS Microbiol Rev* 37:634-663 doi:10.1111/1574-6976.12028
- Mendez MO, Maier RM (2008) Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments-an emerging remediation technology *Environ Health Perspect* 116:278
- Naidu R et al. (2015) Towards bioavailability-based soil criteria: past, present and future perspectives *Environmental Science and Pollution Research* 22:8779-8785 doi:10.1007/s11356-013-1617-x
- Panagos P, Van Liedekerke M, Yigini Y, Montanarella L (2013) Contaminated sites in Europe: Review of the current situation based on data collected through a European network *Journal of Environmental and Public Health* doi:10.1155/2013/158764

- Pandey VC, Bajpai O, Singh N (2016) Energy crops in sustainable phytoremediation Renewable and Sustainable Energy Reviews 54:58-73 doi:<https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.09.078>
- Pardo T, Bernal MP, Clemente R (2014a) Efficiency of soil organic and inorganic amendments on the remediation of a contaminated mine soil: I. Effects on trace elements and nutrients solubility and leaching risk Chemosphere 107:121-128 doi:[10.1016/j.chemosphere.2014.03.023](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.023)
- Pardo T, Bernal MP, Clemente R (2017) Phytostabilisation of severely contaminated mine tailings using halophytes and field addition of organic and inorganic amendments Chemosphere in press doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.03.079>
- Pardo T, Bes C, Bernal MP, Clemente R (2016) Alleviation of environmental risks associated with severely contaminated mine tailings using amendments: Modeling of trace element speciation, solubility, and plant accumulation Environ Toxicol Chem 35:2874-2884 doi:[10.1002/etc.3434](https://doi.org/10.1002/etc.3434)
- Pardo T, Clemente R, Alvarenga P, Bernal MP (2014b) Efficiency of soil organic and inorganic amendments on the remediation of a contaminated mine soil: II. Biological and ecotoxicological evaluation Chemosphere 107:101-108 doi:[10.1016/j.chemosphere.2014.03.017](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.017)
- Pardo T, Clemente R, Epelde L, Garbisu C, Bernal MP (2014c) Evaluation of the phytostabilisation efficiency in a trace elements contaminated soil using soil health indicators J Hazard Mater 268:68-76 doi:[10.1016/j.jhazmat.2014.01.003](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.01.003)
- Pardo T, Martínez-Fernández D, Clemente R, Walker DJ, Bernal MP (2014d) The use of olive-mill waste compost to promote the plant vegetation cover in a trace-element-contaminated soil Environmental Science and Pollution Research 21:1029-1038 doi:[10.1007/s11356-013-1988-z](https://doi.org/10.1007/s11356-013-1988-z)
- Parraga-Aguado I, Querejeta JI, González-Alcaraz MN, Jiménez-Cárceles FJ, Conesa HM (2014) Usefulness of pioneer vegetation for the phytomanagement of metal(loid)s enriched tailings: Grasses vs. shrubs vs. trees J Environ Manage 133:51-58
- Pérez de Mora A, Ortega-Calvo JJ, Cabrera F, Madejón E (2005) Changes in enzyme activities and microbial biomass after “*in situ*” remediation of a heavy metal-contaminated soil Applied Soil Ecology 28:125-137 doi:[10.1016/j.apsoil.2004.07.006](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.07.006)
- Pulford ID, Watson C (2003) Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees: a review Environ Int 29:529-540 doi:[10.1016/S0160-4120\(02\)00152-6](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(02)00152-6)
- Quintela-Sabarís C et al. (2017) Assessing phytotoxicity of trace element-contaminated soils phytomanaged with gentle remediation options at ten European field trials Sci Total Environ 599-600:1388-1398 doi:[10.1016/j.scitotenv.2017.04.187](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.187)
- Robinson BH, Bañuelos G, Conesa HM, Evangelou MWH, Schulin R (2009) The phytomanagement of trace elements in soil Crit Rev Plant Sci 28:240-266
- Ruttens A, Colpaert JV, Mench M, Boisson J, Carleer R, Vangronsveld J (2006a) Phytostabilization of a metal contaminated sandy soil. II: Influence of compost and/or inorganic metal immobilizing soil amendments on metal leaching Environ Pollut 144:533-539 doi:[10.1016/j.envpol.2006.01.021](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.01.021)

- Ruttens A, Mench M, Colpaert JV, Boisson J, Carleer R, Vangronsveld J (2006b) Phytostabilization of a metal contaminated sandy soil. I: Influence of compost and/or inorganic metal immobilizing soil amendments on phytotoxicity and plant availability of metals *Environ Pollut* 144:524-532 doi:10.1016/j.envpol.2006.01.038
- Salem ZB, Laffray X, Ashoour A, Ayadi H, Aleya L (2014) Metal accumulation and distribution in the organs of Reeds and Cattails in a constructed treatment wetland (Etueffont, France) *Ecol Eng* 64:1-17 doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.12.027
- Schröder P et al. (2008) Bioenergy to save the world. Producing novel energy plants for growth on abandoned land *Environmental science and pollution research international* 15:196-204
- Sessitsch A, Kuffner M, Kidd P, Vangronsveld J, Wenzel WW, Fallmann K, Puschenreiter M (2013) The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils *Soil Biol Biochem* 60:182-194 doi:10.1016/j.soilbio.2013.01.012
- Silveira, M., Comerford, N., Reddy, K., Cooper, W. and El-Rifai, H. (2008). Characterization of soil organic carbon pools by acid hydrolysis. *Geoderma*, 144 (1-2):405-414.
- Simek M, Elhottova D, Mench M, Giagnoni L, Nannipieri P, Renella G (2017) Greenhouse gas emissions from a Cu-contaminated soil remediated by in situ stabilization and phytomanaged by a mixed stand of poplar, willows, and false indigo-bush *Int J Phytoremediation* 19:976-984 doi:10.1080/15226514.2016.1267706
- Stevenson, F.J., 1994. *Humus chemistry. Genesis, composition, reactions*, second ed. Wiley, New York.
- Thijs S, Sillen W, Rineau F, Weyens N, Vangronsveld J (2016) Towards an Enhanced Understanding of Plant-Microbiome Interactions to Improve Phytoremediation: Engineering the Metaorganism *Frontiers in microbiology* 7:341 doi:10.3389/fmicb.2016.00341
- Tiessen, H., Moir, J.Q., 1993. Characterization of available P by sequential extraction, in Carter, M.R. (Ed.), *Soil Sampling and Methods of Analysis*. CRC Lewis, Boca Raton, pp. 75-86
- Tordoff GM, Baker AJM, Willis AJ (2000) Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes *Chemosphere* 41:219-228 doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00414-2
- Touceda-González M et al. (2017a) Aided phytostabilisation reduces metal toxicity, improves soil fertility and enhances microbial activity in Cu-rich mine tailings *J Environ Manage* 186:301-313 doi:10.1016/j.jenvman.2016.09.019
- Touceda-González M et al. (2017b) Microbial community structure and activity in trace element-contaminated soils phytomanaged by Gentle Remediation Options (GRO) *Environ Pollut* 231:237-251 doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.097
- van Liedekerke M, Prokop G, Rabl-Berger S, Kibblewhite M, Louwagie G (2014) *Progress in the management of contaminated sites in Europe*. Institute for Environment and Sustainability; European Commission,

- Vangronsveld J et al. (2009) Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field *Environmental science and pollution research international* 16:765-794 doi:10.1007/s11356-009-0213-6
- Wenzel WW (2009) Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils *Plant Soil* 321:385-408
- Weyens N et al. (2009) Bacteria associated with oak and ash on a TCE-contaminated site: characterization of isolates with potential to avoid evapotranspiration of TCE *Environmental Science and Pollution Research* 16:830-843 doi:10.1007/s11356-009-0154-0
- Xue K et al. (2015) Management with willow short rotation coppice increase the functional gene diversity and functional activity of a heavy metal polluted soil *Chemosphere* 138:469-477 doi:10.1016/j.chemosphere.2015.06.062
- Xue K, Zhou J, Van Nostrand J, Mench M, Bes C, Giagnoni L, Renella G (2018) Functional activity and functional gene diversity of a Cu-contaminated soil remediated by aided phytostabilization using compost, dolomitic limestone and a mixed tree stand *Environ Pollut* 242:229-238 doi:10.1016/j.envpol.2018.06.057
- Zanuzzi A, Arocena JM, van Mourik JM, Faz Cano A (2009) Amendments with organic and industrial wastes stimulate soil formation in mine tailings as revealed by micromorphology *Geoderma* 154:69-75 doi:10.1016/j.geoderma.2009.09.014
- Zhang Y, Frankenberger WT (2000) Formation of Dimethylselenonium Compounds in Soil *Environ Sci Technol* 34:776-783 doi:10.1021/es990958y
- Zhao FJ, Lombi E, McGrath SP (2003) Assessing the potential for zinc and cadmium phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* *Plant Soil* 249:37-43 doi:10.1023/a:1022530217289
- Zornoza R, Faz A, Carmona DM, Martínez-Martínez S, Acosta JA (2012) Plant cover and soil biochemical properties in a mine tailing pond five years after application of marble wastes and organic amendments *Pedosphere* 22:22-32 doi:10.1016/S1002-0160(11)60188-4