

CURSO
SUPERIOR

Forestación en paisajes agrarios



Consejería de Agricultura y Pesca

FORESTACIÓN EN PAISAJES AGRARIOS

© Edita: JUNTA DE ANDALUCÍA. *Consejería de Agricultura y Pesca*

Publica: VICECONSEJERÍA. Servicio de Publicaciones y Divulgación.
Coordinadores: Estanislao de Simón Navarrete, María-Ángeles Ripoll Morales
y José Luis González Rebollar

Colección: FORMACIÓN AGRARIA
Serie: CURSO SUPERIOR

I.S.B.N.: 84-8474-136-2

Depósito Legal: GR-1637/04

Fotocomposición e Impresión: SanPrint, S.L. Pol. 2 de Octubre · C/. Bernard Vicent, s/n
18320 SANTA FE (Granada) Tlf. 958 51 32 20

BIORREMEDIACION DE ÁREAS CONTAMINADAS

César Arragada; Juan Antonio Ocampo; Miguel Ángel Herrera *

*: ETSIAM. Universidad de Córdoba. Apartado 3048, Córdoba.

10.1. VISION GENERAL DE LA CONTAMINACIÓN DE LOS SUELOS

10.1.1. METALES PESADOS COMO CONTAMINANTES DEL MEDIOAMBIENTE

La contaminación de la biosfera con metales pesados debido a las actividades del hombre genera un gran problema tanto para la salud humana como para el medio ambiente. Además de los metales de origen geológico, que a veces alcanzan grandes concentraciones (Jen y Bergseth, 1992), la fuente de metales en el suelo es diversa, incluyendo la quema de combustibles fósiles, la fundición de minerales metalíferos, residuos municipales, fertilizantes, pesticidas, aguas residuales, el uso de pigmentos y baterías (Darbon *et al.*, 1992). Otro aspecto de gran importancia medioambiental se refiere a la actividad minera, la cual en muchos casos, origina profundas modificaciones en el paisaje (Arragada y Herrera, 1999). Además, uno de los mayores problemas de la contaminación del suelo por metales pesados, es que existe, entre muchos otros, riesgo de transferencia de estos metales a las aguas subterráneas, transferencia a sitios colindantes a través del viento y su permanencia durante miles de años en el suelo (Juste y Mench, 1992).

La aplicación de residuos sólidos a las tierras agrícolas es una práctica muy desarrollada debido a su reducido coste y a los beneficios que reporta tales como el aumento de las propiedades físicas del suelo y del contenido en nutrientes de éste (Sauerbeck, 1987). Estos residuos pueden, sin embargo, contener concentraciones elevadas de metales pesados que persisten en el suelo largo tiempo después de su aplicación (Juste y Mench, 1992). Actualmente en la Unión Europea, entre el 50 y 70% de los residuos sólidos se desechan en el suelo. Esto representa una aplicación media de 50-100 Kg. de materia seca por hectárea de suelo agrícola, y las previsiones son que se incrementen estas aplicaciones (Brookes y Verstraete, 1989). Por eso la contribución de estos residuos a la cantidad de metales existente en el medio ambiente es considerable. La regulación actual de la Unión Europea para los niveles de metales máximos en suelos agrícolas (CEC, 1986) y la concentración máxima de metales admisibles en comestibles (Ewers, 1991) está basada en numerosos estudios relacionados con su fitotoxicidad y zootoxicidad. Estudios recientes han mostrado, además, efectos adversos de los metales pesados sobre la población de microorganismos del suelo y sus actividades, incluso a concentraciones cercanas a los límites que estipula la UE para la aplicación de residuos (Chaudri *et al.*, 1993; McGrath *et al.*, 1988). Los valores máximos estipulados por la legislación de la UE, España; Estados Unidos, Inglaterra, Dinamarca y Chile se resumen en la tabla I.

Tabla 1. Valores máximos permitidos de metales pesados en el suelo. a: CEC (1986); b: Real decreto 1310/1990 (pH: menor a 7); c: (pH: mayor a 7); d: Adriano *et al.*, (1995); e: Resolución exenta nº 0027/1999 anteproyecto de reglamento de lodos no peligrosos. *: Adriano *et al.*, (1995)

Metal Pesado	C.E. (mg/kg)	España (mg/kg)	España (mg/kg)	USA (mg/kg)	Inglaterra (mg/kg)	Dinamarca (mg/kg)	Chile (mg/kg)
	a	b	c	d	d	d	e
Cadmio (Cd)	1 - 3	1	3	20	3	0,5	40
Cobre (Cu)	50 - 140	50	210	750	135	40	1500
Cromo (Cr)	100 - 150	100 *	100 *	1500	400	30	
Mercurio (Hg)	1 - 1,5	1	1	8	1	0,5	20
Niquel (Ni)	30 - 75	30	112	210	75	15	420
Plomo (Pb)	50 - 300	50	300	150	300	40	300
Zinc (Zn)	150 - 300	150	450	1400	300	100	2800

10.1.2. CICLO DE UN SUELO CONTAMINADO

El ciclo de una contaminación del suelo y su remediación se observa gráficamente en la figura 1, en donde sus principios básicos están relacionados en primer lugar con la apreciación científica, seguido por una apreciación de la autoridad política, luego por una acción política y legislativa y finalmente por la calidad de la medida correctora del problema. En primera instancia, la comunidad científica da a conocer el problema y atrae la atención de las autoridades políticas. Luego las medidas a adoptar deben ser aprobadas por los legisladores, siendo estas acciones decretadas, desarrolladas y llevadas a cabo con la participación pública y de las industrias implicadas. Pueden pasar muchos años hasta que se solucione el problema de forma completa, dependiendo todo de la naturaleza y extensión de la contaminación, demanda social, tecnología adoptada y costos (Adriano, 1986).

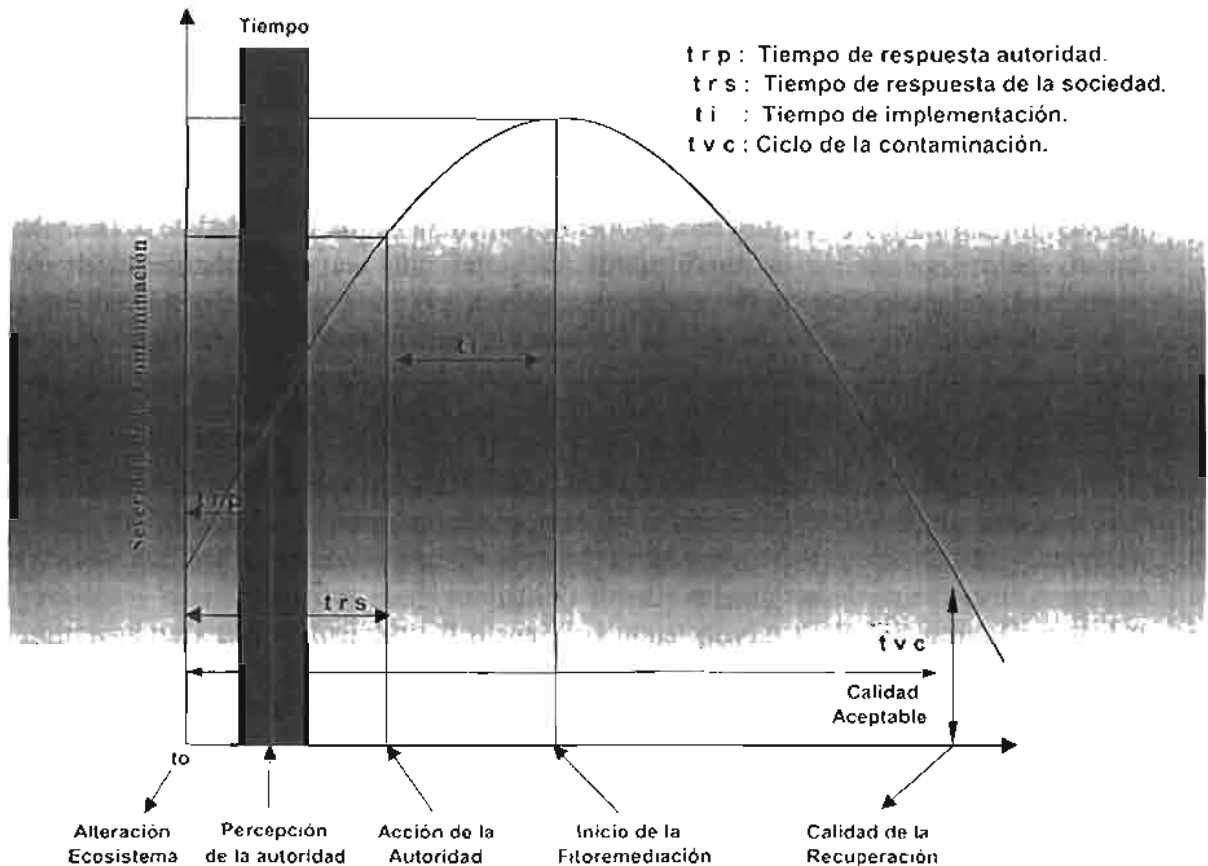


Figura 1. Ciclo de una contaminación del suelo por metales pesados. Modificado de Adriano *et al.* (1986)

10.1.3. METALES PESADOS EN EL SUELO

El término metal pesado se utiliza en forma general y como tal se acepta en estudios de medio ambiente. Sin embargo, este término se refiere estrictamente a elementos metálicos con una masa específica mayor de 5 g.cm^{-3} capaces de formar sulfuros. Desde un punto de vista de presencia, un término más correcto podría corresponder a metales traza, ya que este último se basa sólo en su concentración ($<0.1\%$ en suelo o 100 mg.Kg^{-1} en materia seca de las muestras biológicas). Algunos de estos metales, sin embargo, son micronutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas, tales como el Co (8.9 g cm^{-3}), Cu (8.96 g cm^{-3}), Fe (7.87 g cm^{-3}), Mn (7.43 g cm^{-3}), Mo (10.2 g cm^{-3}), Ni (8.9 g cm^{-3}) and Zn (7.13 g cm^{-3}), (Marschner, 1995), mientras que otros no tienen función biológica conocida, Ag (10.49 g cm^{-3}), Cd (9.8 g cm^{-3}), Cr (7.19 g cm^{-3}), Hg (13.55 g cm^{-3}), Pb (11.4 g cm^{-3}) y Tl (11.85 g cm^{-3}) (Verklej y Schat, 1990). Sólo para algunas especies muy bien delimitadas pueden ser necesario el V (6.0 g cm^{-3}) (Ernst, 1982). El aluminio (2.70 g cm^{-3}), a pesar de no ser un metal pesado, es uno de los metales que presenta mayores problemas en suelos minerales ácidos (Horst, 1995), en los sistemas productivos agrícolas y forestales (Boric y Rubio, 1999). Algo similar ocurre con el arsénico (5.73 g cm^{-3}), metaloide que provoca serios daños tóxicos tanto en el medioambiente como en la transferencia desde éste a la cadena trófica. De esta manera, utilizaremos el mismo término de metal pesado

tanto para aluminio como para arsénico, aunque incorrecto en sentido estricto, pero apropiado según sus problemas potenciales de toxicidad (Enkhtuya *et al.*, 2000).

Los metales están presentes en el suelo en forma de iones metálicos libres, complejos de metales solubles, iones metálicos intercambiables, metales unidos a compuestos orgánicos, compuestos insolubles como óxidos, carbonatos e hidróxidos o pueden formar parte de la estructura de metales silicatados. La toxicidad de los metales en el suelo depende de su biodisponibilidad, definida como la capacidad de ser transferido del suelo a un organismo viviente (Juste, 1988). De acuerdo con Berthelin *et al.*, (1995), la biodisponibilidad es una función no sólo dependiente de la concentración total del metal sino también de factores físico-químicos (pH, materia orgánica, contenido de arcillas) y biológicos (bioabsorción, bioacumulación y solubilización).

La presencia de metales pesados en suelos, a concentraciones elevadas, actúa como agente selectivo de la actividad biológica, dando como resultado un ecosistema con una población muy resistente a estos elementos derivando en una baja diversidad de especies en cada uno de sus niveles (Ernst, 1990).

Se sabe que concentraciones elevadas de metales en el suelo son tóxicas para diversas especies de bacterias y hongos. Se ha estudiado la tolerancia de los microorganismos a los metales en el suelo no sólo con objeto de reducir la contaminación, sino que también para conocer la posible adaptación de los organismos vivientes a condiciones extremas del medio ambiente. El potencial solubilizador de metales pesados de algunos microorganismos del suelo ha atraído el interés biotecnológico ya que representa la base biológica para la inclusión de estos en el suelo, como en la biohidrometalurgia (Rossi, 1990; Torma, 1988).

Los suelos contaminados con metales pesados como Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Se y Zn son un gran problema medioambiental ya que existe una contaminación potencial de las aguas subterráneas, de sitios colindantes a los contaminados por transferencia eólica de materiales, una redistribución de suelo o sedimento contaminado, por absorción de la vegetación y una bioacumulación en la cadena alimentaria (Chaney *et al.*, 1998). El destino de los metales en el suelo es dependiente, como ya se dijo, de procesos físicos, mineralógicos, químicos y biológicos, lo que controla su especiación, retención, solubilización, transporte y biodisponibilidad (Ross, 1994). Entre estos procesos encontramos: el intercambio iónico; adsorción específica; precipitación de superficie; disolución/precipitación; quelación; transformación redox; extracción, fijación y transformación por las plantas y biota del suelo; exudados de organismos vivos y descomposición de biomasa muerta; transporte de agua entre capas del suelo y lixiviados. La dinámica de estos procesos depende de: las características específicas del metal en cuestión, de las propiedades del suelo, de las plantas y microorganismos involucrados y de las condiciones climáticas entre muchos otros (Wenzel *et al.*, 1999).

10.1.4. CONTAMINANTES MIXTOS

En muchos sitios industrializados, la contaminación de los suelos no sólo se limita a los metales pesados. La presencia de contaminantes orgánicos con índices elevados de diversos metales pesados, presenta un problema añadido al momento de definir que plantas son las más idóneas para utilizar en un modelo de remediación de

suelos contaminados. Comúnmente los contaminantes orgánicos incluyen TNT (Trinitrotolueno), procedentes de industrias de armamento, solventes orgánicos como el benceno y tolueno y diversos compuestos como el PCP (Pentaclorofenol), PCBs (Bifenilos policlorados), dioxinas y PAH (Hidrocarburos poliaromáticos), entre otros. La extracción de estos contaminantes orgánicos del suelo por las plantas no sólo dependerá de la capacidad de ésta para metabolizar estos componentes, sino también dependerá de los microorganismos rizosféricos participantes, esenciales en el proceso de rehabilitación del suelo (Saxena *et al.*, 1999). De esta manera, los niveles altos de actividad metabólica que se han encontrado en las raíces y tallos de las plantas, se pueden utilizar para ayudar en lo procesos de fitoremediación de contaminantes orgánicos (Schnoor *et al.*, 1995).

10.1.5. MANEJO DE RESIDUOS CONTAMINANTES

Una de las características de la sociedad moderna es la creciente acumulación de productos químicos en el medioambiente. Principalmente son en forma de productos químicos para uso ambiental y el material residual propio de la industria. Como se ha señalado, estos residuos generados por la actividad antropogénica derivan de una naturaleza muy variada y compleja lo que provoca graves problemas ecológicos en ausencia de una gestión adecuada. Un ejemplo de gestión adecuada se puede indicar en la aplicación de sistemas de depuración de aguas residuales como una alternativa a la mejora de la calidad de los residuos evacuados al medio natural, procesos de amplia aplicación desde hace años en países industrializados (Benitez, 1996).

En términos agrícolas, muchos países desarrollados aprovechan un porcentaje alto de lodos residuales procedentes de depuradoras (Sauerbeck, 1987). Estos residuos utilizados como fertilizantes tienen la facultad de aumentar la tasa de agregación del suelo, mejorando su estabilidad estructural, favoreciendo la percolación de agua con el consecuente beneficio para el desarrollo de los microorganismos y crecimiento radical de las plantas (Díaz-Burgos, 1990). Además, favorecen la capacidad de intercambio catiónico, aumentan los niveles de nitrógeno (N), mejorando la nutrición nitrogenada de los cultivos (Clapp *et al.*, 1986), y aumentan considerablemente los niveles extraíbles y totales de fósforo (P) del suelo (Brendecke *et al.*, 1993). No obstante, se debe tener muy en cuenta que la calidad de estos residuos de depuradoras va a depender tanto de su origen como del tratamiento efectuado en las mismas. De esta forma, si no se toman las medidas adecuadas se puede pasar de un beneficio para el suelo y las plantas, a un riesgo de contaminación debido a la presencia de elevadas concentraciones de micronutrientes y metales pesados, lo que puede afectar la cadena trófica y ser muy tóxico para el desarrollo de los seres vivos (Marschner, 1995).

La presencia de concentraciones altas de metales pesados en los lodos residuales es uno de los mayores riesgos asociados a su uso en los sistemas agrícolas, el cual como se indicara, puede transferirse directamente a la cadena trófica (Jackson y Alloway, 1991), y tener un efecto potencialmente tóxico sobre el desarrollo de los seres vivos (Marschner, 1995).

De esta forma, la utilización de estos lodos residuales en la agricultura hace necesario crear una normativa, más exigente, que regule su uso y aplicación a los suelos, con el fin de evitar su deterioro y una posible transferencia a la capa freática.

Además, como ya se ha mencionado la legislación actual de la Unión Europea establece niveles máximos de metales en suelos agrícolas. La concentración máxima de metales admisibles en comestibles esta basada en numerosos estudios relacionados con su fitotoxicidad y zootoxicidad (Ewers, 1991).

10.1.6. METALES PESADOS Y PLANTAS

Los metales pesados generalmente restringen el crecimiento de las plantas y por lo tanto su demanda de nutrientes. Una de las primeras y más notorias reacciones de las plantas bajo este estrés son los cambios en el crecimiento. De esta manera las plantas que crecen en estas condiciones generalmente tienen un potencial bajo para absorber nutrientes esenciales (Chapin, 1991).

En general los órganos que tienen el primer contacto con las sustancias nocivas, son las raíces, las que muestran cambios rápidos y sensibilidad en sus características de crecimiento (Baker y Walker, 1989).

Los metales pesados se pueden agrupar en elementos esenciales o micronutrientes y elementos no esenciales o tóxicos, de acuerdo con el efecto que producen en las plantas. Los efectos de estos metales sobre el crecimiento de las plantas se pueden observar claramente en la curva de dosis-respuesta (Figura 2).

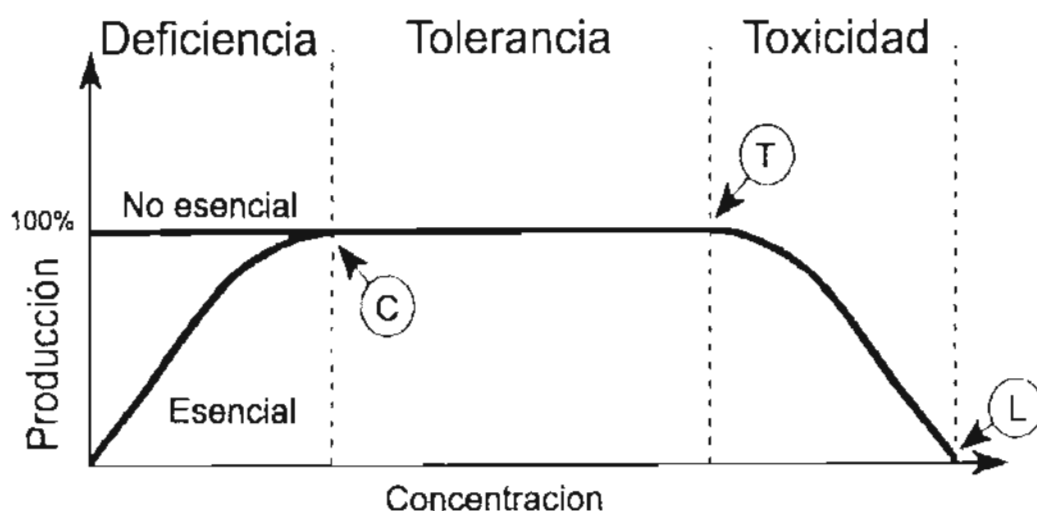


Figura 2. Curva dosis-respuesta para elementos esenciales y no esenciales. C = Deficiencia crítica. T= Umbral de toxicidad. L= Toxicidad letal. (Berry y Wallace, 1981).

La ausencia de un elemento esencial causa un crecimiento anormal, y no se puede sustituir por otros en su función bioquímica. La curva de dosis respuesta tiene 3 fases para los elementos esenciales: deficiencia, tolerancia y toxicidad. Para los elementos no esenciales no existe la fase de deficiencia.

El *nivel crítico* es el contenido de un determinado elemento, por encima del cual la planta no responde positivamente a un incremento de ese elemento. Un contenido por

debajo del nivel crítico afecta a la productividad, sin que se aprecien síntomas visuales de deficiencia, y únicamente cuando la deficiencia es extrema aparecen síntomas visuales (Fuentes, 1994).

Muchas plantas desarrollan síntomas de estrés cuando se exponen a concentraciones elevadas de metales pesados esenciales o no esenciales. Las plantas tolerantes, sin embargo, pueden adaptarse a concentraciones elevadas de metales pesados en su medio de crecimiento (Dietz *et al.*, 1999). Uno de los mecanismos de tolerancia a los metales pesados, se basa en la reducción de su entrada en la planta y una vez absorbidos los metales pesados, la planta puede desarrollar mecanismos que permitan su almacenamiento en lugares no perjudiciales para las células (Steffens, 1990).

Entre los mecanismos de tolerancia a los metales pesados en plantas, cabe destacar: la producción de compuestos intracelulares fijadores de metales, las alteraciones del metabolismo celular y las alteraciones en la estructura de la membrana (Verkleij y Schat, 1990). Por ejemplo, se sabe que las plantas de *Armeria maritima*, tolerantes al cobre, acumulan este metal en las vacuolas de las hojas (Lichtenberger y Neumann, 1997). También se ha sugerido este tipo de secuestro vacuolar en *Thlaspi caerulescens* caracterizada por su gran capacidad de acumulación de Zn y Ni (Vázquez *et al.*, 1994). Otro de los mecanismos de tolerancia bien estudiados es la formación de quelatos dentro o fuera del citoplasma (Steffens, 1990). Taylor (1987) sugiere que la exclusión de metales desde el simplasma es un mecanismo de tolerancia a los metales pesados muy importante en las plantas superiores. Esta exclusión opera en dos niveles: a) Ausencia o restricción de la absorción en el transporte del metal pesado; b) Mecanismos externos de las plantas, donde encontramos las interrelaciones con hongos formadores de micorrizas (Baker y Walker, 1990). Entre los posibles mecanismos de restricción de la absorción de metales pesados por las plantas tenemos la producción de compuestos intracelulares fijadores de metales, o sustancias quelantes (Verkleij y Schat, 1990). Como ejemplo tenemos que los cambios en la capacidad fijadora de metales de la pared celular, al aumentar, inhibe la razón de absorción de cobre (Cathala y Salsac, 1975).

10.1.6.1. Traslocación de metales en la planta

Los metales pesados son transportados en los tejidos de las plantas a través del apoplasto (Greger, 1999). En los vasos del xilema los metales son probablemente traslocados en forma de complejos. De esta manera podemos encontrar que, el zinc se puede ser transportado formando quelatos con ácidos orgánicos, el cobre en forma de complejo con aminoácidos, y el cadmio probablemente como ion divalente (Hardiman y Jacoby, 1984; Mench *et al.*, 1988; White *et al.*, 1981).

10.1.6.2. Distribución de metales en la planta

Los metales se pueden fijar a las paredes celulares durante su transporte por la planta, lo que explica el por qué muchos metales se acumulan en las raíces, cerca del 75–90%, mientras que en el tallo solo se encuentran pequeñas cantidades (Greger,

1999). En plantas como *Salix* los metales pesados se acumulan de forma mayoritaria en la madera del tronco (Greger y Landberg, 1995a).

10.1.6.3. Potencial de bioconcentración de metales en la planta

La absorción de metales en relación con la concentración externa del metal puede diferir en diferentes genotipos de plantas. Baker, (1981) propone una estrategia básica (Figura 3) en donde algunas plantas denominadas excluidoras, puede absorber bajas cantidades del metal, aunque su concentración externa sea alta. Este mecanismo de restricción de la absorción del metal puede romperse en el momento en que la concentración externa del metal sea muy alta, con lo que se potencia la acción tóxica del mismo y su absorción masiva.

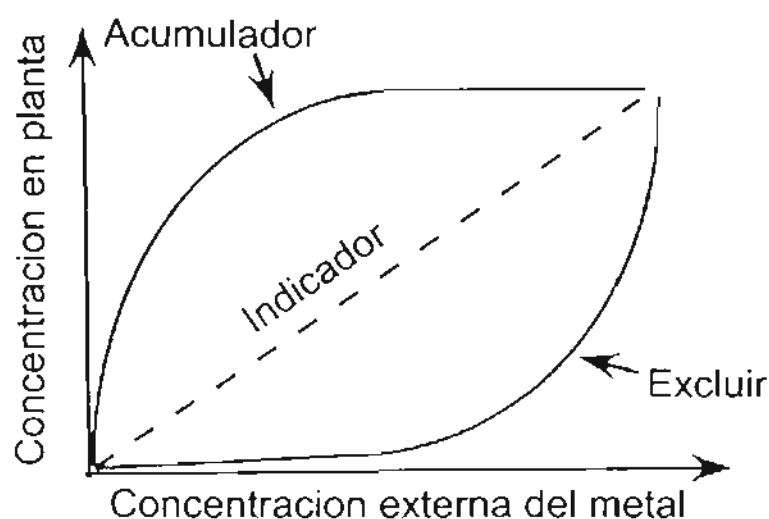


Figura 3. Características de la absorción de metales por tres plantas diferentes. Fuente: Baker, (1981)

Otras plantas llamadas acumuladoras, tienden a acumular cantidades elevadas del metal aunque su concentración externa sea muy baja. Estas plantas poseen en sus tejidos ciertos mecanismos de destoxificación, lo que le permite la acumulación alta de los metales. Na concentración externa elevada de este metal no incrementa su absorción, probablemente por la competencia entre los distintos iones metálicos por el sitio de absorción.

Por último tenemos las plantas indicadoras. Estas plantas tienen una concentración en sus tejidos que reflejan la concentración externa del metal, incrementando linealmente con un incremento en la concentración del metal en el medio externo. De esta manera, hay plantas con distintos grados de absorción de metales, por lo que es necesario estandarizar valores basándose en los datos propuestos por Markert, (1994), con el fin de conocer las concentraciones de metales que se puede encontrar en una planta normal (Tabla 2).

Tabla 2. Composición normal de elementos traza en una planta. (Markert, 1994).

Elemento Traza	Símbolo	$\mu\text{g g}^{-1}$
Aluminio	Al	80
Cadmio	Cd	0,05
Cromo	Cr	1,5
Cobalto	Co	0,2
Cobre	Cu	10
Oro	Au	0,001
Hierro	Fe	150
Manganeso	Mn	200
Mercurio	Hg	0,1
Molibdeno	Mo	0,5
Niquel	Ni	1,5
Plata	Ag	0,2
Plomo	Pb	1
Zinc	Zn	50

10.2. IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS DEL SUELO.

10.2.1. HONGOS DEL SUELO

Los microorganismos más abundantes del suelo son las bacterias y luego los hongos los que por su mayor tamaño, aportan la mayor parte del protoplasma microbiano total en suelos cultivados y con buena aireación (McAllister *et al.*, 1994). La presencia de hongos es mayor en las capas orgánicas de suelos forestales. En general, habitan un entorno complejo, y sus características nutricionales y fisiológicas determinarán en gran medida su habilidad para convivir con otros microorganismos.

El número de hongos en suelo varía proporcionalmente con el contenido de materia orgánica. El pH es otra de las variables ecológicas que gobiernan la actividad y composición de la flora microbiana. En zonas con un pH bajo está dominada por hongos, siendo los responsables de gran parte de las transformaciones bioquímicas en estos hábitats. La aplicación de fertilizantes inorgánicos modifica la población fúngica más como consecuencia de la acidificación del medio que por la adición de nutrientes. El agua del suelo afecta directamente la abundancia y función de los hongos. Su capacidad de catalizar cambios químicos en el suelo puede desaparecer completamente en presencia de poca cantidad de agua.

Muchos géneros de hongos aparecen más frecuentemente en los suelos, presentando un crecimiento activo y esporulación abundante. Entre ellos cabe destacar: *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Trichoderma spp.*, *Mucor spp.* y *Rhizopus spp.*

Garret (1970) los clasifica ecológicamente en saprobios de suelo y hongos que infectan raíz. Aquellos que comúnmente colonizan la materia orgánica, como son *Aspergillus spp.*, *Trichoderma spp.*, *Fusarium spp.*, *Mucorales* y otros, se reconocen, como saprobios obligados, aunque pueden ser patógenos de semillas, o atacar raíces de plantas debilitadas por situaciones de estrés físico (Alexander, 1977).

El crecimiento de la planta y su desarrollo están controlados, en gran medida, por el suelo que rodea a la raíz, un entorno que la planta ayuda a crear a través de la amplia variedad de compuestos orgánicos que libera. Hale *et al.*, (1981) clasifican estos materiales en exudados, secreciones, mucilagos, mucigeles y lisados. Esta región del suelo que rodea la raíz y que presenta una alta actividad microbiana es denominada rizósfera (Balandreau y Knowles, 1978) la que puede dividirse en: a) rizósfera externa o suelo rizosférico que comprende la región del suelo que rodea la raíz, en íntimo contacto con ella. A esta zona es a la que se refieren los estudios clásicos sobre rizósfera. b) micorrizósfera: formada por el tejido cortical de la raíz invadido y colonizado por microorganismos saprobios y simbióticos. c) micosfera: espacio de suelo formado por las hifas extraradicales de hongos MA (Linderman, 1988). d) rizoplana: constituida por la superficie de la raíz y los microorganismos que viven en ella.

10.2.2. HONGOS FORMADORES DE SIMBIOSIS MICORRÍCICA

Las raíces de la mayoría de las especies vegetales terrestres, forman una asociación simbiótica mutualista con hongos del suelo, que recibe el nombre de

micorriza (Ocampo, 1980a; Linderman, 1994; Smith y Read, 1997). Sin este tipo de simbiosis un gran número de especies vegetales, incluidas muchas especies arbóreas, no podrían sobrevivir (Pritchett, 1991).

Evolutivamente se han diferenciado distintos tipos, que distinguimos según los caracteres morfo-anatómicos que desarrollan. Existe una gran diversidad en cuanto a morfología y fisiología de las asociaciones micorrícicas, (Figura 4). Cabe destacar cinco tipos principales de micorrizas: arbusculares o endomicorriza, orquidoides, ericoides, arbutoides y formadoras de manto o ectomicorriza (Barea 1998).

TIPOS DE MICORRIZAS

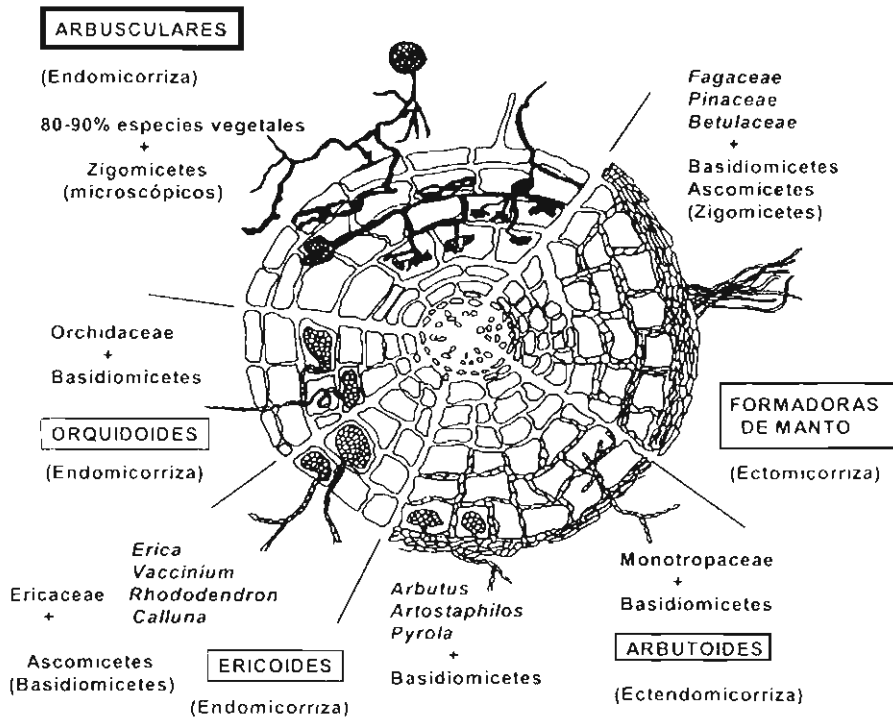


Figura 4. Tipos de micorrizas. (Barea, 1998).

Esta simbiosis mutualista puede considerarse como organismos dobles en el sentido de que el órgano a través del cual absorben agua y nutrientes las plantas, esta constituido por la raíz y el hongo simbionte que vive con ella (Honrubia *et al.*, 1997). A pesar de lo anterior, en algunas ocasiones la relación hongo-planta puede cambiar de

biotrófica a necrotrófica, es decir, dejar de ser una simbiosis mutualística para pasar a parasitismo (Crush, 1976; Smith, 1974).

10.2.2.1. Micorrizas en suelos contaminados con metales pesados

Los microorganismos del suelo son piezas importantes en la restauración de la vegetación de medios ambientes potencialmente tóxicos y alterados, ya que estos pueden contribuir a la disponibilidad de nutrientes, producir sustancias estimuladoras de crecimiento, inmovilizar los metales pesados en el suelo, y unir las partículas del suelo en agregados estables que mejoran la estructura del suelo y reducen potencialmente los efectos de la erosión (Alexander, 1977; Smith y Read 1997). Desafortunadamente, la contaminación con metales pesados, no sólo limita el establecimiento de las plantas, sino que también reduce el número de microorganismos del suelo, su actividad vigor y funcionalidad (Baath, 1989; Sylvia y Williams, 1992a,b). La toxicidad elevada de metales pesados para los microbios del suelo y para los procesos mediados microbiológicamente, así como los efectos a largo plazo de los metales en el suelo, es un tema de gran actualidad, aunque se sabe poco sobre el mismo (Brokes y Verstraete, 1989; Colpaert, 1998; Tyler *et al.*, 1989). Los microorganismos del suelo pueden permitir de forma directa el establecimiento de especies de plantas en sitios contaminados con residuos metálicos, mediante inmovilización de metales pesados en el suelo, reduciendo su disponibilidad para las plantas (Chanmugathas y Bollag, 1987).

Todos los organismos, incluidos los microorganismos, pueden mostrar resistencia a metales pesados mediante "evitación" cuando el organismo es capaz de reducir la asimilación de metales o por "tolerancia" cuando los organismos sobreviven en la presencia de altas concentraciones de estos metales (Baker, 1987; Joho *et al.*, 1985; Turnau *et al.*, 1996). En el primer mecanismo implicado, la reducción de la asimilación de metales pesados se lleva a cabo mediante la formación de complejos fuera de las células. En la segunda forma de resistencia a metales pesados, los metales son quelados intracelularmente mediante la síntesis de metalotioneinas, polifosfatos y/ o mediante su compartimentación en las vacuolas. La tolerancia y la sensibilidad individual a metales pesados puede distinguirse por la forma de crecimiento de plantas y microorganismos, en los sustratos contaminados.

Dentro de la población de microorganismos del suelo cabe destacar a los hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA). Estos hongos son uno de los microorganismos más comunes del suelo (Gerdemann y Nicolson, 1963), están presentes en la mayoría de los ecosistemas terrestres (Nicolson, 1967) y forman asociaciones simbióticas con las raíces de la mayoría de las plantas. Su beneficio potencial sobre el crecimiento de las plantas como simbiontes mutualistas de las raíces está ampliamente reconocido (Linderman, 1988; Brundett *et al.*, 1996). El efecto sobre el crecimiento de las plantas está basado, fundamentalmente, en un incremento en la eficiencia de asimilación del N y P (Fitter, 1991; Harley y Smith, 1983; Kothari *et al.*, 1990; Li *et al.*, 1991a; Pearson y Jakobsen, 1993). La absorción elevada de nutrientes en plantas micorrizadas es atribuido a la extensión del micelio extramatricial que proporciona una amplia exploración de volumen del suelo (Rhodes y Gerdemann, 1975). También se ha puesto de manifiesto que los hongos formadores de micorrizas proporcionan a las plantas gran resistencia frente a elementos adversos, tanto bióticos (microorganismos patógenos) como abióticos (pesticidas) (Ocampo, 1993).

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares son simbioses obligados, no encontrándose en la actualidad forma de cultivo en medios artificiales, por lo que su aplicación en agricultura extensiva es limitada. Sin embargo, una alternativa para incrementar la población de endofitos arbusculares autóctonos y su capacidad infectiva y efectiva es la aplicación de otros microorganismos que favorezcan estos parámetros, como es el caso de algunos hongos saprobios.

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares estimulan la repoblación de vegetación de suelos en zonas mineras (Schramm, 1966) mediante el aumento en la capacidad de absorción de nutrientes del sistema radical de la planta (Hayman, 1983), incrementando su supervivencia y crecimiento (Perry y Amaranthus, 1990). La interacción entre los hongos arbusculares y otros minerales aparte del P, particularmente metales pesados, ha sido objeto de recientes estudios (Haselwandter *et al.*, 1994). Se ha sugerido que algunos hongos de la micorriza pueden proteger a las plantas del efecto nocivo de excesivas concentraciones de metales pesados (Schüepp *et al.*, 1987; Sylvia y Williams, 1992a,b). Hay también bastantes evidencias de que la colonización arbuscular puede reducir la acumulación de metales en plantas cultivadas en suelos contaminados (Arines *et al.*, 1989; Bethlenfalvay y Frason, 1989; Dueck *et al.*, 1986; El-Kerbawy *et al.*, 1989; Leyval *et al.*, 1991; McGee, 1987; Pacovsky, 1986; Schuepp *et al.*, 1987). Se ha sugerido que los hongos formadores de MA, pueden servir como un filtro o barrera impidiendo la transferencia de los metales pesados a las partes aéreas de las plantas (Schuepp *et al.*, 1987). De esta forma diversos autores han encontrado que en plantas micorrizadas se reducen las concentraciones de Cu, Zn, Cd, Fe y Mn (Bürkert y Robson, 1994; El-Kherbawy *et al.*, 1989; George *et al.*, 1994; Heggo *et al.*, 1990; Li *et al.*, 1991b; Schuepp *et al.*, 1987; Weissenhorn *et al.*, 1995a). Hasta la fecha existe poca información sobre la interacción de otros metales pesados y los hongos arbusculares.

Todavía no se conoce el mecanismo de tolerancia a metales pesados aunque parece que los hongos arbusculares pueden reducir el transporte de metales pesados a la planta mediante la unión de éstos a la pared celular de la hifa fúngica en la raíz por lo que se impide su translocación a la parte aérea (Bradley *et al.*, 1981; Brown y Wilkins, 1985; Dehn y Schuepp, 1989). Es posible que la planta y no el hongo sea el tolerante a metales y que el beneficio pueda deberse a los efectos de la micorriza sobre la fisiología de la planta en lugar de la mitigación de la toxicidad a metales pesados. Sin embargo, se han descrito diferencias en la eficiencia de los hongos arbusculares en la asimilación de metales pesados por la planta (Medeiros *et al.*, 1994) lo que sugiere, que la asociación entre el hongo y la planta es crucial y que la micorriza beneficia el establecimiento de la planta en suelos contaminados con metales pesados.

El hecho de que los hongos formadores de micorrizas arbusculares se encuentren en suelos contaminados con metales pesados indica una adaptación de la población autóctona a estas condiciones (Arnold y Kapustka, 1987; Gildon y Tinker, 1983a,b; Griffioen *et al.*, 1994; Iestswaart *et al.*, 1992; Koomen *et al.*, 1990; Leyval *et al.*, 1991; Weissenhorn *et al.*, 1995b, c). Sin embargo, en suelos en los que la concentración de metales es excesivamente alta no hay la suficiente cantidad de hongos arbusculares para colonizar las raíces de las plantas a introducir, por lo que la multiplicación e inoculación con ecotipos seleccionados de hongos arbusculares autóctonos puede, potencialmente, mejorar los problemas de repoblación asociados con dichos suelos.

Por otro lado, los hongos arbusculares tienen el gran potencial de poder ser empleados en programas de biomonitorización. El descenso en el número de hongos arbusculares (densidad de propágulos) y la infectividad de estos en suelos contaminados con metales pesados se puede usar como bioindicadores de contaminaciones en el suelo (Leyval *et al.*, 1995). La colonización de plantas después de la restauración del suelo puede ser una señal de que la concentración y disponibilidad del metal ha decrecido. Ya que algunos hongos han desarrollado una tolerancia a metales en determinados suelos, un hongo sensible se puede utilizar por su habilidad para colonizar raíces en cualquier suelo contaminado, dando información útil sobre su toxicidad. En general la recuperación de estos ecosistemas, en los cuales la acción antropogénica y/o la naturaleza han eliminado los microorganismos del suelo, es donde cobra mayor importancia la acción benéfica de las micorrizas (Daft y Nicolson, 1974; Jasper *et al.*, 1989; Zajicek *et al.*, 1987).

10.2.3. HONGOS SAPROBIOS

Los hongos saprobios son uno de los hongos más comunes e importantes de la rizosfera, también viven en la rizoplana y micorrizosfera de las plantas (Dix y Webster, 1995). Obtienen beneficios nutricionales a partir de la materia orgánica, componentes inorgánicos, exudados de raíces y hongos muertos (Finlay y Söderström, 1992). Estos hongos pueden crecer fuera de los sitios de actividad microbiana (Godeas *et al.*, 1999) y pueden ser clasificados dentro de un grupo funcional como solubilizadores de fosfatos, antagonistas de patógenos, entre muchos otros (Gryndler, 2000).

En la actualidad existe una deficiente información sobre la interacción entre hongos responsables de la micorrización y hongos no patógenos de la rizósfera. Uno de los primeros trabajos en este sentido fue el de Paget (1975), quien comprobó que la inoculación conjunta de *Cylindrocarpon destructans* y *Endogone* producía un aumento en el peso seco de plantas de *Fragaria*, aun cuando el saprobio disminuía el porcentaje de micorrización de la raíz. Paget basó estos resultados en la capacidad de *Cylindrocarpon* de solubilizar P.

Los hongos saprobios utilizan lignina y celulosa, segregan sustancias de interés industrial y son grandes degradadores de sustancias tóxicas (Madrid *et al.*, 1996), también segregan sustancias que pueden actuar sobre el crecimiento de otros microorganismos del suelo incluidos los hongos formadores de micorrizas arbusculares (McAllister *et al.*, 1994, 1995). Algunos de ellos pertenecientes a los géneros *Trichoderma*, *Penicillium* y *Fusarium* favorecen la micorrización e inciden sobre el crecimiento de las plantas (Fracchia *et al.*, 1998; García-Romera *et al.*, 1998; McAllister *et al.*, 1997).

Algunos resultados experimentales confirman la existencia de efectos sinérgicos de los hongos saprobios sobre la germinación y colonización radical de las plantas por hongos formadores de MA (Calvet *et al.*, 1993; Fillion *et al.*, 1999; Kucey y Janzen, 1987; McAllister *et al.*, 1996).

Aunque existen pruebas de la estimulación o inhibición del desarrollo del hongo MA, en condiciones axénicas, por hongos saprobios, no existen, como se ha mencionado anteriormente, apenas trabajos que estudien la interacción entre estos dos

microorganismos a nivel de la rizósfera. Estudios entre la interacción MA y HS en suelos contaminados, no existen en la actualidad.

Aunque se tiende a pensar, que *Trichoderma sp* tiene un efecto negativo sobre los hongos formadores de MA (Camporota, 1985; Chu Wu, 1981, Cook y Baker, 1983), debido a su fama de excelente antagonista. Calvet *et al.*, (1992; 1993) y McAllister *et al.*, (1994) encuentran que la inoculación dual entre cepas de *Trichoderma* y *Glomus spp.*, incrementa el porcentaje de infección MA y el crecimiento de diversas plantas.

Es posible que el efecto de los hongos saprobios sobre la infección MA se dé en la fase extramatricial, minimizándose con el tiempo, una vez que la infección se desarrolla dentro de la raíz hospedadora. Calvet *et al.*, (1992), trabajando con varias especies saprobias aisladas de composts, obtiene las tasas más altas de germinación de esporas de *Glomus*, con 4 cepas de *Trichoderma*, y las más bajas con *Aspergillus fumigatus*. Además de acelerar la germinación de esporas MA, algunos hongos del suelo serían capaces de aumentar el crecimiento hifal y la producción de esporas vegetativas (Azcón-Aguilar *et al.*, 1986 a y b).

10.2.4. INTERACCIONES ENTRE MICORRIZAS Y OTROS MICROORGANISMOS DEL SUELO

Cuando los hongos micorrícicos ocupan el córtex radical, las alteraciones fisiológicas que producen en el hospedador y la presencia de sus hifas en el entorno, modifican física y químicamente la rizósfera, originando un nuevo ambiente, con características propias, designado como "micorrizósfera" (Rambelli, 1973). La creación de esta micorrizósfera establecerá un nuevo equilibrio microbiano, producto de la interacción metabólica directa de los microorganismos con las hifas del hongo micorrícico, o efectos indirectos mediados por la planta hospedadora.

Los estudios realizados sobre interacciones entre hongos micorrícicos y microflora del suelo, han intentado evaluar las respuestas de la planta a inoculaciones microbianas dentro del fenómeno micorrizósfera. Dentro de los cambios fisiológicos que acompañan el desarrollo de la micorrización, la alteración de la permeabilidad de la membrana es, sin duda, el de mayor impacto sobre los microorganismos del suelo (Graham *et al.*, 1981). La permeabilidad de la membrana disminuye a consecuencia de la mejora en la nutrición fosforada (Ratnayake *et al.*, 1978), alterando así la cantidad y calidad de los exudados radicales (Schwab *et al.*, 1983), que afectarán la microflora rizosférica (Curl y Truelove, 1986). Un componente clave de la micorrizósfera es la presencia de hifas micorrícicas extramatriciales, aún a cierta distancia del hospedador (Graham *et al.*, 1982). Estas hifas extienden la micorrizósfera mucho más allá de los límites de la rizósfera de raíces no micorrizadas (Rhodes y Gerdemann, 1978), denominándose esta zona micosfera (Linderman, 1988).

Se cree que otros grupos funcionales que afectan el crecimiento vegetal también podrían aumentar su número en la micorrizósfera: productores de hormonas, vitaminas, sideróforos y aún patógenos radicales (Meyer, 1985). Bagyaraj y Menge (1978) encontraron un incremento de las poblaciones de bacterias y actinomicetes en la rizósfera de plantas inoculadas con *Azotobacter* o MA. Además, observaron que la inoculación conjunta de estos dos microorganismos aumentaba el crecimiento de la planta.

Estudios posteriores han demostrado que la inoculación dual MA - bacterias beneficiosas, ya sean bacterias fijadoras de nitrógeno (Bagyaraj y Menge, 1978; Barea *et al.*, 1983; Subba Rao *et al.*, 1985; Tilak, 1985), solubilizadoras de P (Azcon Aguilar y Barea, 1978; Raj *et al.*, 1981) o promotoras del crecimiento (Burr y Caesar, 1983), produce un efecto positivo sobre el crecimiento del hospedador. Otros trabajos recogen efectos beneficiosos de la inoculación de bacterias sobre el desarrollo de plantas micorrizadas (Barea *et al.*, 1983), sin establecer las razones de este resultado. No se descarta que las bacterias utilizadas interactúen a más de un nivel metabólico.

En los últimos años, se ha estudiado la influencia de distintos factores sobre el desarrollo "in vitro" de los hongos responsables de la micorrización MA, con el fin de lograr su crecimiento independiente (Azcon-Aguilar *et al.*, 1991; Hepper, 1984; Siqueira, 1987). En muchos casos el problema del desarrollo *in vitro* de estos hongos se plantea desde la misma germinación, que puede ser baja, errática y frecuentemente muy lenta (Hardie, 1985).

Se han investigado factores físicos, químicos y biológicos, con especial interés, entre estos últimos, en la estimulación que los microorganismos rizosféricos pudieran ejercer sobre la germinación y desarrollo saprofítico de esporas MA, ya que la germinación de éstas frecuentemente aumenta en placas contaminadas con hongos o bacterias. Los primeros datos fueron aportados por Mosse (1959); Mejstrik (1965). Más tarde, Daniels y Trappe (1980); Barea y Azcón-Aguilar (1982) destacaron la estimulación directa que la microbiota del suelo parecía ejercer sobre los estadios saprofíticos preinfectivos de *G. mosseae*.

Mosse (1959) y Daniels y Trappe (1980) explicaron de forma opuesta la reducción de la germinación y crecimiento hifal de *Gigaspora sp.* en medio estéril (Wilson, 1984). Mientras la primera atribuye el efecto a la falta de sustancias estimulantes producidas por la microflora, los segundos sostienen que ésta actuaría metabolizando autoinhibidores en la espora. Una tercera hipótesis prescinde del efecto-microorganismo, atribuyendo la inhibición a un exceso de nutrientes resultante de la esterilización (Wilson, 1984).

10.3. IMPORTANCIA DE LAS PLANTAS LEÑOSAS EN LA RECUPERACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS

10.3.1. ALTERNATIVAS DE REMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR METALES PESADOS

Hay que tener en cuenta, que los metales pesados no pueden ser eliminados fácilmente. La restauración de suelos contaminados por metales pesados está limitada a las técnicas de inmovilización o extracción/concentración. Entre las opciones de restauración de lugares contaminados por metales pesados los métodos de fitorestauración ó fitoremediación, han cobrado gran interés recientemente (Anderson y Coats, 1994; Arriagada *et al.*, 2001; Salt *et al.*, 1995). La fitoremediación, cuyo término deriva del griego *phyto* (planta) y del latín *remedium*, es el uso de la vegetación para el tratamiento *in-situ* de la contaminación de suelos, sedimentos y agua. Muchos autores han descrito los procesos generales que se pueden utilizar para remediar los suelos contaminados, aunque muchos de ellos combinan entre sí estos procesos (Adriano *et al.*, 1995;

Cunningham *et al.*, 1995; Gert, 2000; Salt *et al.*, 1998; Saxena *et al.*, 1999). Estos procesos se pueden resumir de la siguiente forma:

Fitovolatilización: Uso de plantas o actividad microbiana asociada, para facilitar la absorción y consecuente volatilización del contaminante a la atmósfera, a través de enzimas especializadas en transformar, degradar y volatilizar el contaminante en el sistema planta-microorganismos-suelo (Rugh, 1996), por ejemplo generación de Hg⁰ ó dimetilselenido (Li *et al.*, 2000). No existen trabajos en los que se haya estudiado el papel de hongos micorrícicos y saprobios en este proceso.

Bioremediación/Rizodegradación: Proceso en que se utilizan las asociaciones entre plantas y microorganismos del suelo para remediar la contaminación de los suelos con componentes orgánicos. Estos componentes están biodisponibles fácilmente y los microorganismos pueden metabolizarlos siendo degradados posteriormente en las raíces de las plantas (Cunningham *et al.*, 1995; Salt *et al.*, 1998; Saxena *et al.*, 1999).

Fitotransformación/Fitodegradación: Consiste esencialmente en la absorción y transformación de contaminantes orgánicos y nutrientes. Las plantas absorben el contaminante, lo metabolizan mediante actividad enzimática y pueden degradarlos hasta componentes no tóxicos o menos tóxicos (EPA, 1998; Schnoor, 1997). Algunos autores también le denominan fitoestimulación.

Rizofiltración: Este proceso utiliza plantas desarrolladas en medio líquido para a través de sus raíces absorber, concentrar, precipitar y secuestrar los metales contaminantes desde cursos de agua contaminados con lodos residuales y sistemas de reciclado de nutrientes.

Fitoestabilización: El principio del método de la litoestabilización es promover el crecimiento de la planta para reducir o eliminar la disponibilidad de los metales, minimizar la erosión por agua o viento, mejorar las características del suelo (contenido en materia orgánica en particular) y reducir el lavado de metales. Este proceso se utiliza mayoritariamente cuando la contaminación por metales pesados es relativamente baja. La fitoestabilización es, sin embargo, una solución temporal, ya que los metales no se eliminan y hay un riesgo que aumenta con el tiempo, de movilización de metales en la rizósfera y de su transferencia desde las plantas a los animales, razón por la que es más adecuado el uso de plantas poco palatables. Por esta razón, las plantas fitoestabilizantes deben también inmovilizar metales en las raíces y procurar una acumulación baja de los mismos en la parte aérea. Las plantas micorrizadas son de gran interés ya que las micorrizas pueden unir metales y limitar su translocación a la parte aérea. Este tratamiento incluye una fertilización apropiada, tanto mediante una reducción de la disponibilidad de metales como usando diferentes especies de plantas tolerantes a metales. La combinación de micorrizas con fertilizantes mejorará el establecimiento de la planta en suelos contaminados (Hetrick *et al.*, 1994).

Fitoextracción: Proceso mediante el cual se utilizan plantas específicas que puedan transportar, absorber y servir como productoras de suficiente biomasa en el campo para concentrar y posteriormente eliminar los metales del suelo. La mayoría de las plantas acumuladoras de metales pertenecen a la familia *Brassicaceae*, como *Thlaspic caerulescens* hiperacumuladora de Cd (Li *et al.*,

2000), y que es no micotrófica. Sin embargo, estas plantas producen poca biomasa, comparadas con otras como *Salix* o *Eucalyptus* con gran potencial de extracción (Greger y Landberg, 1995b; Pereira, 1998). En este sentido Pereira y Herrera (1997a) indican que la micorrización de plantas de *E.globulus* y *E. camaldulensis* incrementan la supervivencia de las plántulas desarrollándose en algunos suelos muy contaminados por metales pesados. Este efecto positivo también se traduce en el aumento de producción de biomasa si se compara con plantas no inoculadas (Pereira, 1998).

Dentro del proceso de fitoextracción, Salt, (2000), distingue dos estrategias diferentes: Una fitoextracción inducida en la que se aplica un quelato al suelo que induce una mayor absorción del metal de interés, por parte de la planta (Figura 5 A). Como ejemplo podemos mencionar la aplicación de quelatos sintéticos con una gran afinidad con el metal que se desea extraer, como EDTA para Pb y EGTA para Cd (Blaylock *et al.*, 1997), citrato para uranio (Huang *et al.*, 1998) y amonio tiocianato para oro (Anderson *et al.*, 1998).

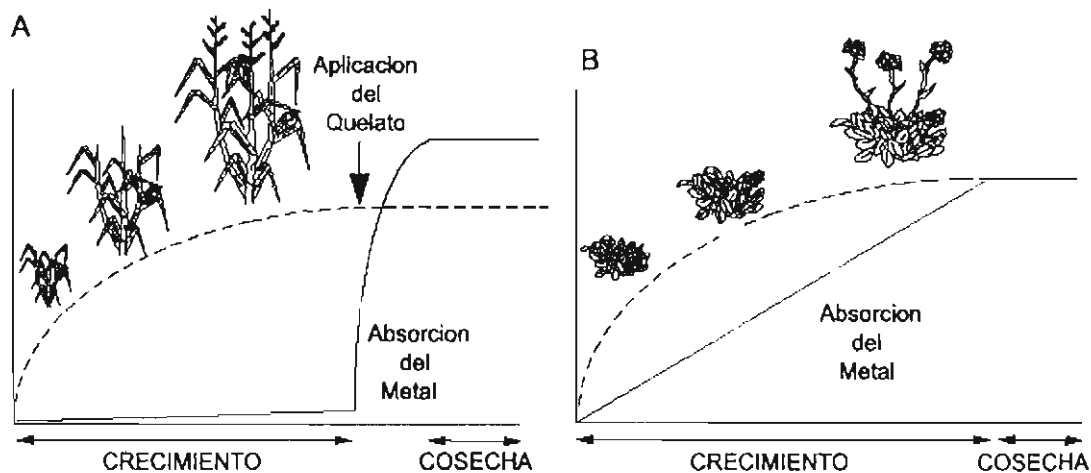


Figura 5. A. Representación esquemática de los procesos de fitoextracción. Esquema de fitoextracción inducida (quelato asistida). B. Esquema de fitoextracción continua. Fuente: Salt, 2000.

La segunda estrategia de fitoextracción incluye el uso de procesos fisiológicos especializados que permiten a las plantas acumular el metal durante todo su ciclo de crecimiento (Figura 5 B). De acuerdo con esta estrategia, se requieren plantas tales como *Salix* o *Eucalyptus* capaces de producir gran cantidad de biomasa aérea (Greger y Landberg, 1997b; Pereira, 1998).

La colonización de las plantas por hongos arbusculares y la capacidad asimiladora de las plantas micorrizadas va a depender de una serie de factores entre los que cabe destacar: propiedades físico-químicas del suelo (Wang y Chao, 1992), nivel de fertilización (Lambert *et al.*, 1979; Thompson, 1990), pH (El-Kherbawy *et al.*, 1989; Killham y Firestone, 1983), planta hospedadora (Griffioen y Ernst, 1989; Kucey y Janzen, 1987), hongo arbuscular implicado (Gildon y Tinker, 1981), compatibilidad del hospedador y el simbionte (Denny y Wilkins, 1987), la concentración de metales pesados en el suelo (Koomen *et al.*, 1990) y la acción de otros microorganismos tales como los hongos saprobios.

10.3.2. ESPECIES SUSCEPTIBLES DE UTILIZAR EN UN PROGRAMA DE FITOREMEDIACIÓN FORESTAL

Una de las plantas idóneas para los programas de fitoremediación son las del género *Eucalyptus*. El género *Eucalyptus*, pertenece a la familia *Myrtaceae*, subfamilia *Leptospermoidae* y agrupa en torno a las 600 especies.

Entre las características más destacables de las especies de este género se encuentra su capacidad de crecer rápidamente en ambientes adecuados y de resistencia a las condiciones edafológicas restrictivas de suelos marginales procedentes de cultivos agrarios, favoreciendo la formación de suelo y su regeneración (Montoya, 1995). Se ha utilizado en programas de recuperación de suelos severamente erosionados y de zonas áridas (Prado y Toro, 1996). También se ha utilizado en zonas propensas a sufrir incendios forestales. La gran resistencia de *Eucalyptus* al fuego, puede deberse al sistema que presenta para el crecimiento y desarrollo de los brotes, basado en la existencia de dos tipos de yemas, de forma que si se destruyen las yemas axilares normales se activan las yemas axilares accesorias. Asimismo presentan yemas epicórmicas y formaciones de lignotúber, que son estructuras globosas que se forman a la altura de las primeras hojas de las plántulas, a medida que la plántula se desarrolla. A nivel foliar, el género *Eucalyptus*, presenta un marcado polimorfismo que se traduce en destacadas diferencias entre hojas juveniles, intermedias y maduras.

En general, se acepta que el género *Eucalyptus* tiene una gran demanda de luz y no soporta una cubierta superior, por lo que si en un momento dado, se desarrollan en esas condiciones, las plantas no crecen de forma adecuada pudiendo morir debido a su carácter intolerante. Diversas especies del género *Eucalyptus*, entre las que se encuentran *E. camaldulensis* y *E. tereticornis*, presentan una gran plasticidad para desarrollarse en un amplio gradiente hídrico.

Durante mucho tiempo se ha pensado que el género *Eucalyptus* agota los recursos hídricos, el origen de esta idea radica en que se ha utilizado para reducir la humedad de áreas anegadas. No obstante, se tiene que tener en consideración que, cuando disminuye el contenido de agua del suelo, las plantas tienden a crecer más lentamente con un menor consumo del recurso hídrico.

Cuando los eucaliptos no están sujetos a una producción silvícola intensiva, mejoran el suelo y no existen pruebas de que degraden el terreno. Por el contrario se ha observado que en suelos muy pobres, como los arenales de Huelva, los eucaliptales viejos y nunca recepados, han mejorado notablemente los suelos, siendo en la actualidad muy superiores en contenidos de nutrientes y en materia orgánica, comparado con su entorno deforestado, razón por la cual actualmente se están usando en el cultivo de frutales Montoya (1995).

Las raíces de eucalipto pueden colonizarse por dos tipos de hongos micorrícicos, formando dos tipos de simbiosis: micorrizas arbusculares y ectomicorrizas (Asai, 1934). La asociación de eucalipto con micorrizas arbusculares fue primero descrita por Asai (1934) siendo posteriormente profundizada por Maeda (1954), sin embargo, la primera colonización artificial en condiciones controladas fue más tarde (Boudarga y Dexheimer, 1988; Malajzuk *et al.*, 1981). Las micorrizas arbusculares parecen estar más presentes en plántulas jóvenes mientras que las ectomicorrizas se encuentran con mayor

frecuencia en plantas de cierta edad (Chilvers *et al.*, 1987). Sin embargo, ambos tipos de simbiontes pueden presentarse simultáneamente en las mismas secciones de la raíz. Normalmente, el hongo arbuscular coloniza la parte interna del córtex, de la raíz, mientras que el hongo ectomicorrízico está restringido a la partes externas de la misma (Chilvers *et al.*, 1987).

El *Eucalyptus globulus* Labill, también conocido como eucalipto blanco, es una de las especies más extendidas en el mundo, principalmente por su rápido crecimiento y su gran producción de biomasa. Introducida en Europa en 1774, se utilizó al comienzo como una especie ornamental y para desecar zonas cenagosas, aunque en estos momentos, su principal uso es el productor, fundamentalmente para pasta de celulosa (Riguero, 1993). Esta especie posee una amplia plasticidad de crecimiento en suelos de baja fertilidad, empobrecidos o marginales, aunque no tolera suelos calcáreos (Pereira *et al.*, 1996).

Uno de los países que cuenta con mayor superficie plantada de *E. globulus*, en el mundo es España, con unas 550.000 Ha (Pereira *et al.*, 1996), que están localizadas principalmente en Andalucía, Galicia, Asturias y Cantabria. Concretamente, en la provincia de Huelva, hay unas 95.000 Ha dedicadas a esta especie (Riguero, 1993).

La mayoría de las plantaciones se llevaron a cabo en España después de 1960, en terrenos abandonados por la agricultura, debido a la baja calidad de los suelos y a la pérdida de fertilidad (Pereira *et al.*, 1996). La silvicultura del eucaliptal es muy sencilla, al faltar en ella las claras, cortas de regeneración, así como otras actuaciones forestales específicas sobre los estratos leñosos, reduciéndose las dificultades técnicas de la repoblación y la ejecución correcta de las cortas en los momentos más adecuados (Montoya, 1995).

10.4. BIBLIOGRAFÍA

- Adrianpo, D.C. 1986. Trace elements in the terrestrial environment. Springer-Verlag., New York, N.Y. 536p.
- Adriano, D., Chlopeka, A., Kaplan, D., Clusters, H. y Vangronsveld J. 1995. Soil contamination and remediation: philosophy, science and technology. En: Proceedings Third International Conference On The Biogeochemistry Of Trace Elements. Paris (France) 15-19 May 1995. 465:504 p.
- Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology. 2nd. ed. Wiley. New York.
- Anderson, C.W.N., Books R.R., Stewart R.B. y Simock R. 1998. Harvesting a crop of gold in plants. Nature 395: 553-554.
- Anderson, T.A. y Coast J.R. 1994. Bioremediation through rhizosphere technology. ACS Symposium Serie. Washington, D.C.
- Arines, J., Vilariño, A. y Sáinz, M. 1989. Effect of different inocula of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on manganese content and concentration in red clover (*Trifolium pratense* L.) plants. New Phytologist 112: 215-219.
- Arnold, P.T. y Kapustka, L.A. 1987. VA mycorrhizal colonization and spore populations in an abandoned agricultural field after five years of sludge application. Ohio Journal Science 87: 112-114.
- Ariagada, C. y Herrera, M. 1999. Restoration of mine soils contaminated by heavy metals through improved forest species. En: Proceedings of the International Congress Mine Water y Environment, Spain. Vol 1: 119-123.
- Arriagada, C., Herrera, M. y Ocampo, J. 2001. Establecimiento de *Eucalyptus globulus* en suelos contaminados con metales pesados y recuperación de su flora microbiana. III Congreso Forestal Español.
- Asai, T. 1934. Über das Vorkommen und die Bedeutung der Wurzelpilze in den Landpflanzen. Japanese Journal of Botany 7: 107-150.
- Azcón-Aguilar, C. y Barea, J.M. 1978. Effects of interactions between different culture fractions of phospho-bacteria and Rhizobium on mycorrhizal infection, growth and nodulation of *Medicago sativa*. Canadian Journal of MicroBiology 24: 520-524.
- Azcón-Aguilar, C., Díaz Rodríguez, R.M. y Barea, J.M. 1986a. Effect of soil microorganisms on spore germination and growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. Transaction of the British Mycological Society. 91: 337-340.
- Azcón-Aguilar, C., Díaz-Rodríguez, R.M. y Barea, J.M. 1986. Effect of free-living fungi on the germination of *G. mosseae* on soil extract. En: Mycorrhizae: Physiology and Genetics. V. Gianninazzi-Pearson y S. Gianninazzi, (eds) pp 515-519. INRA. Paris.
- Azcón-Aguilar, C., García, F. y Barea, J.M. 1991. Germinación y crecimiento axénico de los hongos formadores de micorrizas VA. En: Fijación y Movilización Biológica de

Nutrientes. II. Fijación de Nitrógeno y micorrizas. J. López Gorgé, J. Olivares y J.M. Barea. (eds.). CSIC.

Baath, E. 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations. *Water, Air and Soil Pollution* 47: 335-379.

Bagyarag, D.J. y Menge, J.A. 1978. Interaction between a VA mycorrhiza and *Azotobacter* and their effects on rhizosphere microflora and plant growth. *New Phytologist*. 80: 567-573.

Baker, A.J.M. 1981. Accumulators and excluders strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition* 3: 643.

Baker, A.J.M. 1987. Metal tolerance. *New Phytologist* 106: 93-111.

Baker, A.J.M. y Walker, P.L. 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*. Shaw, A. J. (ed.) pp 156-177. CRC Press, Boca raton Florida.

Balandreau, J. y Knowles, R. 1978. The rhizosphere. En: *Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants*. Dommerges, Y.R. y Kruppa, S.V. (eds.) pp. 243-268. Elsevier, Amsterdam.

Barea, J.M. 1998. Biología de la rizosfera. *Investigación y Ciencia (Scientific American)*, 256: 74-81.

Barea, J.M. y Azcón-Aguilar, C. 1982. Interactions between mycorrhizal fungi and soil microorganisms. En: *Les Mycorhizes: Biologie et Utilization*. National Institute of Agronomic Research (INRA). pp 181. France.

Barea, J.M., Bonis, A.F. y Olivares, J. 1983. Interactions between *Azospirillum* and VA mycorrhiza and their effects on growth and nutrition of maize and ryegrass. *Soil Biology and Biochemistry*. 14: 705-709.

Benítez, E. 1996. Capacidad fertilizante y contaminante de lodos de depuradora generados en la provincia de Granada. Tesis doctoral Universidad de Granada.

Berthelin, J., Munier-Lamy, C. y Leyval, C. 1995. Effect of microorganisms on mobility of heavy metals in soils. En: *Metals, other Inorganics, and Microbial Activities. (Environmental Impacts of Soil Component Interactions, vol 2)* (Huang, P.M., Berthelin, J., Bollag, J.M., McGill, W.B., Page, A.L. Eds.). Lewis, Boca Raton, Florida, pp. 3-17.

Berry, W.L. y Wallace, A. 1981. Toxicity: the concept and relationship to the dose response curve. *Journal of Plant Nutrition*. 3: 13-19.

Bethlenfalvay, G.J. y Frason, R.L. 1989. Manganese toxicity alleviated by mycorrhizae in soybean. *Journal of Plant Nutrition* 12: 953-970.

-
- Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D. y Raskin, I. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Science & Technology*. 31: 869-865.
- Borei, F. y Rubio, R. 1999. Effects of arbuscular mycorrhizae and liming on growth and mineral acquisition of aluminum-tolerant and aluminium-sensitive barley cultivars. *Journal of Plant Nutrition*. 22: 121-137.
- Boudarga, K. y Dexheimer, J. 1988. Etude ultrastructurale des endomycorhizes à vésicules et arbuscules de jeunes plants d'*Eucalyptus camaldulensis* (Denhardt) Myrtacées. *Bulletin de la Société Botanique de France* 135: 111-121.
- Bradley, R., Burt, A.J. y Read, D.J. 1981. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Callun vulgaris*. *Nature* 292: 335-337.
- Brooke, P.C. y Verstraete, W. 1989. The functioning of soil as an ecosystem. In: *Soil Quality Assessment: State of the Art Report on Soil Quality. Final Report to the Commission of the European Communities, Directorate-General XII, Contract EV4A/0008/NL*, Agricultural University Wageningen.
- Brown, M.T. y Wilkins, D.A. 1985. Zinc tolerance of mycorrhizal *Betula*. *New Phytologist* 99: 101-106.
- Brundrett, M., Bougher, N., Grove, T. y Malajczuk, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR. Canberra. 374 pp.
- Bürkert, B. y Robson, A. 1994. Zn uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil. *Soil Biology and Biochemistry* 26: 1117-1124.
- Burr, T.J. y Caesar, A. 1983. Beneficial plant bacteria. Chemical Rubber Co. Crit. Rev. Plant Science. 2: 1-20.
- Calvet, C., Barea, J.M. & Pera, J. 1992. In vitro interactions between the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and some saprophytic fungi isolated from organic substrates. *Soil Biology and Biochemistry*. 24: 775-780.
- Calvet, C., Pera, J. y Barea, J.M. 1993. Growth response of marigold (*Tagetes erecta* L.) to inoculation with *Glomus mosseae*, *Trichoderma aureoviride* and *Phytium ultimum* in a peat-perlite mixture. *Plant and Soil* 148, 1-6.
- Camporota, P. 1985. Antagonisme in vitro de *Trichoderma* spp. vis à vis de *Rhizoctonia solani* Khün. *Agronomie* 5 (7): 613-620.
- Cathala, N. y Salsac, L. 1975. Absorption du cuivre par les racines de maïs (*Zea mays* L.) et le tournesol (*Helianthus annuus* L.). *Plant and Soil* 42.
- Cec (Commission of the European Community). 1986. Council directive on the protection of the environment and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. *Official Journal European Communities* L181: 6-12.

Chaney, R., Brown, S. y Angle, J. 1998. Soil root interface: Food chain contamination and ecosystem health. In: Huang, M. *et al.*, (eds.) Madison, WI: Soil Science Society American.

Chanmugathas, P. y Bollag, J. 1987. Microbial role in immobilization and subsequent mobilization of cadmium in soil suspensions. *Soil Science Society of American Journal* 51: 1184-1191.

Chapin, F.S., III. 1991. Effects of multiple environmental stresses on nutrient availability and use. In: *Response of Plants to Multiple Stresses*. Mooney, H.A. *et al* (eds.) pp 67-88. Academic Press, London.

Chaudri, A.M., McGrath, S.P., Giller, K.E., Rietz, E. y Sauerbeck, D. 1993. Enumeration of indigenous *Rhizobium leguminosarum biovar trifolii* in soils previously treated with metal-contaminated sewage sludge. *Soil Biology and Biochemistry* 25: 301-309.

Chilvers, G.A., Lapeyrie, F.F. y Horan, D.P. 1987. Ectomycorrhizal vs. endomycorrhizal fungi within the same root system. *New Phytologist* 107: 441-448.

Chu, F.F. y WU, W.S. 1981. Antagonistic action of *Trichoderma spp* and *Penicillium spp* on *Rhizoctonia solani*. *Memoirs of the College of Agriculture, National Taiwan University*. 21 (2): 4-18.

Cieslinski, G., Nielsen, G.H. y Hogue, E.J. 1996. Effect of soil cadmium application and pH on growth and cadmium accumulation in roots, leaves and fruit of strawberry plants (*Fragaria x anassa* Duch.). *Plant and Soil*. 180: 267-276.

Clapp, C., Stark, S., Claa Y.D. y Larson, W. 1986. Sewage organic matter and soil properties In: Y. Chen y Y. Aunimelech (eds.). *The role of organic matter in modern agriculture*. Pp 209-254. Martinus Nighoff Publishers, Holand.

Colpaert, J.V. 1998. Biological Interactions: The significance of root microbial symbioses for phytoremediation of metal-contaminated soils. En: *Metal Contaminated Soils: In situ Inactivation and Phytoremediation*. Vangronsveld, J y Cunningham S.D (eds.) pp: 75-91. Springer Verlag, Germany

Cook, R.J. y Baker, K.F. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minn.

Crush, J.R. 1976. Endomycorrhizas and legumen growth in some soils of the Mackenzie Basin, Canterbury, New Zealand. *Agricultural Research*. 19. 473-476.

Cunningham, S.D., Berti, W.R. y Huang, J.W.W. 1995. Phytoremediation of contaminated soils. *Trends Biotechnology* 13: 393-397.

Curl, E.A. y Truelove, B. 1986. *The Rhizosphere*. Springer-Verlag, New York. 288 pp.

- Daft, M.J. y Nicolson, T.H. 1974. Arbuscular mycorrhizas in plants colonizing coal wastes in Scotland. *New Phytologist*. 73: 1129-1138.
- Daniels, B.A. y Trappe, J.M. 1980. Factors affecting spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus epigaeus*. *Mycologia*, 72: 457-471.
- Darbon, N., Lavagne, F. y Quillon, J.P. 1992. Les phosphates et le cadmium: le sol, la plante, l'homme. APAO, Paris.
- Dehn, B. y Schüepp, H. 1989. Influence of VA mycorrhizae on the uptake and distribution of heavy metals in plants. *Agricultural Ecosystem and Environment* 29: 79-83.
- Denny, H.J. y Wilkins, D.A. 1987. Zinc tolerance in *Betula spp.* IV. The mechanism of ectomycorrhizal amelioration of zinc toxicity. *New Phytologist* 106: 545-553.
- Díaz-Burgos, M. 1990. Compostaje de lodos residuales: Aplicación agronómica y criterios de madurez. Tesis Doctoral Universidad Autónoma de Madrid.
- Dietz, K.-J., Baier, M. y Krämer, U. 1999. Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. In: *Heavy Metal Stress in Plants. From molecules to ecosystem*. Prasad and Hagemeyer (eds.) pp 73-97. Springer - Verlag Berlin.
- Dix, N.J. y Webster, J. 1995. *Fungal Ecology*. Chapman y Hall, England. 594 p.
- Dueck, T.A., Visser, P., Ernst, W.H.O. y Schat, H. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizae decrease zinc-toxicity to grasses growing in zinc-polluted soil. *Soil Biology and Biochemistry* 18: 331-333.
- El-Kherbawy, M., Angle, J.S., Heggo, A. y Chaney, R.L. 1989. Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Biology and Fertility Soils* 8: 61-65.
- Enkhtuya, B., Rydlová, J. y Vosátka, M. 2000. Effectiveness of indigenous and non-indigenous isolates of arbuscular mycorrhizal fungi in soils from degraded ecosystems and man-made habitats. *Applied Soil Ecology* 14: 201-211.
- Epa, 1998. A Citizen's Guide to Phytoremediation. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, EPA 542-F-98-011, August.
- Ernst, W.H.O. 1982. Schwermetallpflanzen. En: *Pflanzennökologie und Mineralstoffwechsel*. H. Kinzel, (ed.) pp: 472-506. Ulmer, Stuttgart.
- Ernst, W.H.O. 1990. Mine vegetation in Europe. En: *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*. Shaw, A.J. (ed.) pp 21-37. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Ewers, U. 1991. Standards, guidelines, and legislative regulations concerning metals and their compounds. En: *Metals and their Compounds in the Environment: Occurrence, Analysis and Biological Relevance*. Merian, E. (ed.) pp. 687-711. VCH, Weinheim.

Filion, M., St-Arnaud, M. y Fortin, J.A. 1999. Direct interaction between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and different rhizosphere microorganisms. *New Phytologist* 141: 525-533.

Finlay, R. y Söderström, B. 1992. Mycorrhiza and carbon flow to the soil. In: *Mycorrhizal Functioning*. M. Allen ed. Chapman y Hall, New York. pp 134-160

Fitter, A.H. 1991. Costs and benefits of mycorrhizas: Implications for functioning under natural conditions. *Experientia* 47: 350-355.

Fracchia, S., Mújica, M.T., García-Romera, I., García-Garrido, J.M., Martín, J., Ocampo, J.A. y Godeas, A. 1998. Interactions between *Glomus mosseae* and arbuscular mycorrhizal sporocarp-associated saprophytic fungi. *Plant and Soil*. 200: 131-137.

Fuentes, J.L. 1994. El suelo y los fertilizantes. 4ª Edición. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 327 p.

García-Romera, I., García-Garrido, J.M., Martín, J., Fracchia, S., Mujica, M.T., Godeas, A. y Ocampo, J.A. 1998. Interactions between saprophytic *Fusarium* strains and arbuscular mycorrhizas of soybean plants. *Symbiosis* 24: 235-246.

Garret, S.D. 1970. Pathogenic root infecting fungi. Cambridge Univ. Press. Cambridge.

Gert, A. 2000. Phytoremediation of soil and sludge with special examination of heavy metal contamination. En: *Bioremediation of Contaminated Soils*. Wise, D *et al.* (eds.) pp: 787-809. Dekker, Inc. New York.

George, E., Romheld, V. y Marschner, H. 1994. Contribution of mycorrhizal fungi to micronutrient uptake by plants. En: *Biochemistry of Metal Micronutrients in the Rhizosphere*. Manthey, J.A., Crowley, D.E., Luster, D.G. (eds.) pp. 93-199. CRC, Boca Raton, Florida.

Gerdemann, J.W. y Nicolson, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transaction of the British Mycological Society*. 46: 235-244.

Gildon, A. y Tinker P.B. 1981. A heavy metal tolerant strain of mycorrhizal fungus. *Transaction of the British Mycological Society*. 77: 648-649.

Gildon, A. y Tinker, P.B. 1983a. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist* 95: 247-261.

Gildon, A. y Tinker, P.B. 1983b. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. II. The effects of infection on uptake of copper. *New Phytologist* 95: 263-268.

Godeas, A., Fracchia, S., Mújica, M.T. y Ocampo, J.A. 1999. Influence of soil impoverishment on the interaction between *Glomus mosseae* and saprobe fungi. *Mycorrhiza* 9: 185-189.

- Godbold, D.L. y Jentschke, G. 1998. Aluminium accumulation in root cell walls coincides with inhibition of root growth but not with inhibition of magnesium uptake in Norway Spruce. *Physiologia Plantarum*. 102: 553-560.
- Graham, J.H., Leonard, R.T. y Menge, J.A. 1981. Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology*. 68: 548-552.
- Greger, M. 1999. Metal availability and bioconcentration in plants. En: *Heavy Metal Stress in Plants. From molecules to ecosystem*. Prasad and Hagemeyer (eds.) pp 1-27. Springer – Verlag Berlin.
- Greger, M. y Landberg, T. 1995a. Cadmium accumulation in *Salix* in relation to cadmium concentration in the soil. Report from Vattenfall Utveckling AB 1995-1999 (en Sueco).
- Greger, M. y Landberg, T. 1995b. Use of willow clones with high Cd accumulating properties in phytoremediation of agricultural soils with elevated Cd levels. En: *Proceedings of the 3rd International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements, 15-20 May 1995, Paris*.
- Griffioen, W.A.J. y Ernst, E.H.O. 1989. The role of VA mycorrhiza in the heavy metal tolerance of *Agrostis capillaris* L. *Agricultural, Ecosystem and Environment*. 29: 173-177.
- Griffioen, W.A.J., Ietswaart, J.H. y Ernst, W.H.O. 1994. Mycorrhizal infection of an *Agrostis capillaris* population on a copper contaminated soil. *Plant and Soil* 158: 83-89.
- Gryndler, M. 2000. Interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with other soil organisms. En *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kapulnik, Y and Douds D.D (eds.) pp: 239-262. Academic Publishers. Netherlands.
- Hale, M.G., Moore, L.D. y Griffin, G.J. 1981. Factors affecting root exudation and significance for the rhizosphere ecosystems. En: "Biological and Chemical Interactions in the Rhizosphere". *Symp. Proc. Ecol. Res. Comm., Swed. nat Sci. Res. Council., Estocolmo*, pp. 43-71.
- Hardie, K. 1985. The effect of removal of extraradical hyphae on water uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *New Phytologist*. 101: 677-684.
- Hardiman, R.T. y Jacoby, B. 1984. Absorption and translocation of Cd uptake in bush beans (*Phaseolus vulgaris*). *Physiologia Plantarum* 61: 670-674.
- Harley, J. L. y Smith, S.E. 1983. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. London. 483 pp.
- Haselwandter, K. y Berreck, M. 1994. Accumulation of radionuclides in fungi. En: *Metal Ions in Fungi*. Winkelmann, G. and Winge, D.R. (eds.). pp. 259-277. Dekker, New York.

Hayman, D.S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Canadian Journal of Botany* 61: 944-963.

Heggo, A., Angle, J.S. y Chaney, R.L. 1990. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 865-869.

Hepper, C.M. 1984. Isolation and culture of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. En "VA Mycorrhiza" (Eds. C. L.L. Powell y D.J. Bagyaraj), pp. 95-112. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T. y Figge, D.A.H. 1994. The influence of mycorrhizal symbiosis and fertilizer amendments on establishment of vegetation in heavy metal mine spoil. *Environmental Pollution* 86: 171-179.

Horst, W. 1995. The role of the apoplast in aluminium toxicity and resistance of higher plants: a review. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*. 158: 419-428.

Huang, J.W, Blaylock, M.J. y Kapulnik, Y. 1998. Phytoremediation of uranium-contaminated soils: Role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation by plants. *Environmental Science of Technology* 32: 2004-2008.

Ietswaart, J.H., Griffioen, W.A.J. y Ernst, W.H.O. 1992. Seasonality of VAM infection in three populations of *Agrostis capillaris* (Gramineae) on soil with or without heavy metal enrichment. *Plant and Soil* 39: 67-73.

Jasper, D.A., Abbott, L.K. y Robson, A.D. 1989. Acacias respond to additions of phosphorus and to inoculation with VA mycorrhizal fungi in soils stockpiled during mineral sand mining. *Plant and Soil* 115: 99-108.

Jeng, A.S. y Bergseth, H. 1992. Chemical and mineralogical properties of Norwegian alum shale soils, with special emphasis on heavy metal content and availability. *Acta Agricultural Scandinavica* B. 42: 88-93.

Joho, M., Imai, M. y Murayama, T. 1985. Different distribution of Cd²⁺ between Cd-sensitive and Cd-resistant strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of General Microbiology* 131: 53-56.

Juste, C. 1988. Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol. *Science du Sol*. 26: 103-112.

Juste, C. y Mench, M. 1992. Long-term application of sewage sludge and its effects on metal uptake by crops. En: *Biogeochemistry of Trace Metals: Advances in Trace Substances Research*. Adriano, D.C. (ed.) pp. 159-193. Lewis, Boca Raton, Florida.

Killham, K. y Firestone, M.K. 1983. Vesicular arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acidic and heavy metal depositions. *Plant and Soil* 72: 39-48.

Koomen, I., McGrath, S.P. y Giller, K.E. 1990. Mycorrhizal infection of clover is delayed in soils contaminated with heavy metals from past sewage sludge applications. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 871-873.

Kothari, S.K., Marschner, H. y Roemheld, V. 1990. Direct and indirect effects of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on acquisition of mineral nutrients by maize (*Zea mays* L.) in a calcareous soil. *New Phytologist* 116: 637-645.

Kucey, R.M.N. y Janzen, H.H. 1987. Effect of VAM and reduced nutrient availability on growth and phosphorus and micronutrient uptake of wheat and field beans under greenhouse conditions. *Plant and Soil* 104: 71-78.

Lambert, D.H., Baker, D.E. y Cole, H. 1979. The role of mycorrhizae in the interactions of phosphorus with zinc, copper and other elements. *Soil Sciences Society of American Journal*. 43: 976-980.

Leyval, C., Berthelin, J., Schontz, D., Weissenhorn, I. y Morel, J.L. 1991. Influence of endomycorrhizas on maize uptake of Pb, Cu, Zn and Cd applied as mineral salts or sewage sludges. En: *Heavy Metals in the Environment*. Farmer, J.G. (ed.). pp. 204-207. CEP Consultants Ltd., Edinburgh.

Li Y-M, Chaney R.L, Angle J.S y Baker A.J.M. 2000. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils. In: *Bioremediation of Contaminated Soils*. Wise, D *et al* (eds.) pp: 837-857. Dekker, Inc. New York.

Li, X.L., George, E. y Marschner, H. 1991a. Extension of the phosphorus depletion zone in VA-mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant and Soil* 136: 41-48.

Li, X.L., George, E., Marschner, H. y Zhang, J.-L. 1997. Phosphorus acquisition from compacted soil by hyphae of a micorrhizal fungus associated with red clover (*Trifolium pratense*). *Canadian Journal of Botany*. 75: 723-729.

Lichtenberger, O. y Neumann, D. 1997. Analytical electron microscopy as a powerful tool in plant cell biology: examples using electron energy loss spectroscopy and X-ray microanalysis. *European Journal Cell Biology* 73: 378-386.

Linderman, R.G. 1988. Micorrhizal interactions with the rhizosphere microflora. The mycorrhizosphere effect. *Phytopatology*. 78: 366-371.

Linderman, R.G. 1994. Role of VAM fungi in biocontrol. En: *Mycorrhizae and Plant Health*. L. Pflieger & Linderman. R. G. (ed.) pp: 1-25. APS Press. Minnesota.

Madrid, F., de la Rubia, T. y Martínez, J. 1996. Effect of *Phanerochaete flavido-alba* on aromatic acids in olive oil mill waste waters. *Technological and Environmental Chemistry* 51: 161-168.

Maeda, M. 1954. The meaning of mycorrhiza in regard to sytematic botany. *Kumamoto Journal of Science*, series B3, 57-84.

- Malajczuk, N., Linderman, R.G., Kough, J. y Trappe, J.M. 1981. Presence of vesicular-arbuscular mycorrhizae in *Eucalyptus* sp. and *Acacia* sp., and their absence in *Banksia* sp. after inoculation with *Glomus fasciculatus*. *New Phytologist* 87: 567-572.
- Markert, B. 1994. Plants as biomonitors – Potential advantages and problems. In: Biogeochemistry of trace elements. Adriano DC, Chen ZS, Yang SS (eds.) pp 601-613. Science and Technology Letters Northwood, New York.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of higher plants. Second edition. Academic Press, London. 889 pp.
- McAllister, C.B., García-Garrido, J.M, García-Romera, I., Godeas, A. y Ocampo, J.A. 1996. Interactions between *Alternaria alternata*, *Fusarium equiseti* and *Glomus mosseae*. I. Endophyte-saprophyte interactions in vitro. *Symbiosis* 20 : 163–174.
- McAllister, C.B., García-Garrido, J.M., García-Romera, I., Godeas, A. y Ocampo, J.A. 1997. Interaction between *Alternaria alternata* or *Fusarium equiseti* and *Glomus mosseae* and its effects on plant growth. *Biology and Fertility of Soil* 24: 301-305.
- McAllister, C.B., García-Romera, I., Godeas, A. y Ocampo, J.A. 1994. Interaction between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*: Effects on plant growth, arbuscular mycorrhizas and the saprophyte inoculants. *Soil Biology and Biochemistry* 26: 1363-1367.
- McAllister, C.B., García-Romera, I., Mariin, J., Godeas, A. y Ocampo, J.A. 1995. Interaction between *Aspergillus niger* van Tiegh. And *Glomus mosseae*. (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe. *New Phytologist*. 129: 309-316.
- McGrath, S.P., Brookes, P.C. y Giller, K.E. 1988. Effects of potentially toxic elements in soil derived from past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. *Soil Biology and Biochemistry* 20: 415-424.
- McGee, P.A. 1987. Alteration of growth of *Solanum opacum* and *Plantago drummondii* and inhibition of regrowth of hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi from dried root pieces by manganese. *Plant and Soil*. 101: 227-233
- Medeiros, C.A.B., Clark, R.B. y Ellis, J.R. 1994. Effects of excess manganese on mineral uptake in mycorrhizal sorghum. *Journal of Plant Nutrition* 17: 2203-2219.
- Mejstrik, J. 1965. Study of the development of endotrophic mycorrhiza in the association of *Cladietum marisci*. En: "Plant Microbe Relationship". Eds. J. Macura y V. Vancura. pp. 283-290. Praga. Czechoslovak Academy of Science.
- Mench, M., Morel, J.L., Cuckert, A. y Guillet, B. 1988. Metal binding with root exudates of low molecular weight. *Journal Soil Sciences* 33: 521-527.
- Meyer, J. 1985. Analizing the VA mycorrhizosphere. Proceedings 6th N. Am. Conf. on Mycorrhizae, cd. R. Molina, pp. 121-122.
- Montoya, J.M. 1995. El eucalipto. Mundi-Prensa. Bilbao. 125 p.

- Mosse, B. 1959. Observations on the extra-matrical mycelium of a vesicular-arbuscular endophyte. *Transaction of the British Mycological Society*. 42: 439.
- Nicolson, T.H. 1967. Vesicular-arbuscular mycorrhiza: A universal plant symbiosis. *Science Oxford* 55: 561-581.
- Ocampo, J.A. 1980. Micorrizas VA. I. Características generales. *Anales de edafología y agrobiología*. Tomo XXXIX: 351-365.
- Ocampo, J.A. 1993. Influence of pesticides on VA mycorrhizae. En: *Pesticide Interactions in Crop Production. Beneficial and Deleterious Effects*. (J. Altman, ed) pp 213-226. CRC Press. Boca Raton, Florida:
- Pacovsky, R.S. 1986. Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizas of phosphorus fertilized soybean. *Plant and Soil* 95: 379-388.
- Paget, D.K. 1975. The effect of Cyindrocarpon on plant growth responses to VA mycorrhiza. En: "Endomycorrhizas" Sanders, F.E., Mosse y B. Tinker, P.B. Eds. Academic Press, Londres. pp 593.
- Pearson, J.N. y Jakobsen, I. 1993. The relative contribution of hyphae and roots to phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal plants, measured by dual labeling with ^{32}P and ^{33}P . *New Phytologist* 124: 489-494.
- Pereira, G.E. 1998. Efecto de las micorrizas vesículo arbusculares en plántulas de *Eucalyptus globulus* (Labill.) y *E. camadulensis* (Dehnh.) en relación a la tolerancia de sustancias fitotóxicas. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
- Pereira, G.E. y Herrera, M.A. 1997a. Efecto de las micorrizas vesículo arbusculares en el crecimiento de plántulas leñosas establecidas en suelos contaminados con metales pesados. En: *V Jornadas de la Asociación Española de Ecología Terrestre*. Córdoba. pp. 208.
- Pereira, J.S., Tomé, M., Madeira, M., Oliveira, A.C., Tomé, J. y Almeida, M.H. 1996. *Eucalypt* plantations in Portugal. En: *Nutrition of Eucalypts*. Attiwill, P. M. y Adams, M. A. (eds.) pp 371-387. CSIRO Publishing, Australia.
- Perry, A.D. y Amaranthus, M.P. 1990. En: *Environmental restoration science and strategies for restoring the earth*. Berger, J.J. (ed.) Island Press, Washington, D.C.
- Prado, J.A. y Toro, J.A. 1996. Silviculture of *Eucalypt* plantations in Chile. In: *Nutrition of Eucalypts*. Attiwill, P. M. & Adams, M. A. (ed.) pp 357-369. CSIRO Publishing, Australia.
- Pritchett, W.L. 1991. Suelos forestales. Propiedades, conservación y mejoramiento. Editorial Limusa. México. 634 pp.
- Raj, J., Bagyaraj, D.J. y Manjunath, M. 1981. Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate-dissolving bacterium on plant growth and ^{32}P -uptake. *Soil Biology and Biochemistry*. 13: 105-108.

Rambelli, A. 1973. The rhizosphere of mycorrhizae. En: "Ectomycorrhizae", eds. G.L. Marks y T.T. Kolowski. Academic Press., New York, 444 pp.

Ratnayake, M., Leonard, R.T. & Menge, J.A. 1978. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytologist*. 81: 543-552.

Rhodes, L.H. y Gerdemann, J.W. 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. *New Phytologist* 75: 555-561.

Rhodes, L.H. y Gerdemann, J.W. 1978. Influence of phosphorus nutrition on sulphur uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizae of onion. *Soil Biology and Biochemistry*. 10: 361.

Riguero, A. 1993. El eucalipto, un árbol controvertido. *Montes* 31: 43-46.

Ross, S.M. 1994. Retention, transformation and mobility of toxic metals in soils. En: *Toxic metals in soil-plant systems*. Ross SM (ed). pp 63-151. Wiley, Chichester.

Rossi, G. 1990. *Biohydrometallurgy*. McGraw-Hill, Hamburg.

Rugh, C.L., Dayton-Wilde, H., Stack, N.M., Thompson, D.M., Summers, A.O. y Meagher, R.B. 1996. Mercuric ion reductase resistance in transgenic *Arabidopsis thaliana* plants expressing a modified bacterial *merA* gene. *Proc Natural Academic Science USA* 93: 3182-3187.

Salt, D.E., Blaylock, M., Kumar, N.P.B.A., Dushenkov, V., Ensley, B.D., Chet, I. y Raskin, I. 1995. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology* 13: 468-474.

Salt, D.E, Smith, R.D. y Raskin, I. 1998. Phytoremediation. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 49: 643-668.

Sauerbeck, D.R. 1987. Effect of agricultural practices on the physical, chemical and biological properties of soils: Part II. Use of sewage sludge and agricultural wastes. In: *Scientific Basis for Soil Protection in the European Community*. Barth, H., L'Hermite, P. (eds.) pp. 181-210. Elsevier Applied Science, London.

Saxena, P., Krishnaraj, S., Dan, T., Perras, M. y Vettakkorumakankav, N. 1999. Phytoremediation of heavy metal contaminated and polluted soils. En: *Heavy Metal Stress in Plants. From molecules to ecosystem*. Prasad and Hagemeyer (eds.) pp 305-329. Springer – Verlag Berlin.

Schnoor, J.L. 1997. *Phytoremediation, Technology Overview Report, Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center, Series E, Vol. 1, October*.

Schnoor, J., Licht, L., Mccutcheon, S., Wolfe, N. y Carreira, L. 1995. Phytoremediation of contaminated soils and sediments. *Environmental Science Technology*. 29: 318-323.

Schramm, J.E. 1966. Plant colonization studies on black wastes from anthracite mining in Pennsylvania. *Transactions of the American Philosophical Society* 56: 1-94.

Schüepf, H., Dehn, B. y Sticher, H. 1987. Interaktionen zwischen VA-mycorrhizen und Schwermetallbelastungen. *Angewandte Botanik* 61: 85-95.

Schwab, S.M., Menge, J.S. y Leonard, R.T. 1983. Quantitative and qualitative effects of phosphorus on extracts and exudates of sudangrass roots in relation to vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology*. 73: 761-765.

Siqueira, J.O. 1987. Cultura axénica e monoxénica dos fungos micorrizicos vesículo-arbusculares. En: "II Reuniao Brasileira sobre Micorrizas". pp. 44-70. Sao Paulo, Brasil.

Smith, S.E. 1974. Mycorrhizal fungi. *Crit. Rev. Microbiology*. 3: 275-313.

Smith, G.C. y Brennan, E. 1984. Reponse of silver maple seedlings to an acute dose of root applied cadmium. *Forest Science*. 30: 582-586.

Smith, S.E. y Read, D.J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*, 2nd edn. Academic, San Diego.

Steffens, J.C. 1990. The heavy metal binding peptides of plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 41: 553-575.

Subba Rao, N.S., Tilak, K.V.B.R. y Singh, C.S. 1985. Synergistic effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas and *Azospirillum brasilense* on the growth of barley in pots. *Soil Biology and Biochemistry*. 17: 119-121.

Sylvia, D.M. y Williams, S.E. 1992a. *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. ASA Special Publication no. 54, p.102.

Sylvia, D.M. y Williams, S.E. 1992b. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stresses. In: Bethlenfalvay, G.J. & Linderman, R.G. (eds.) *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. pp. 101-124. ASA No 54, Madison, WI, USA.

Taylor, G.J. 1987. Exclusion of metals from the symplasm: a possible mechanism of metal tolerance in higher plants. *Journal of Plant Nutrition* 10: 1213

Thompson, J.P. 1990. Soil sterilization methods to show VA-mycorrhizae aid P and Zn nutrition of wheat in vertisols. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 229-240.

Tilak, K.V.B.R. 1985. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizae and nitrogen fixers. En: *Proc. Soil Biology Symp. Hisar*. p. 219-226.

Torma, A.E. 1988. Leaching of metals. En: *Biotechnology*. Rehm, H-J and Reed, G. (eds.) pp. 368-399. VCH, Weinheim.

Turnau, K., Kottke, I. y Dexheimer, J. 1996. Toxic element filtering in *Rhizopogon roseolus*/*Pinus sylvestris* mycorrhizas collected from calamine dumps. *Mycological Research* 100: 16-22.

- Turnau, K., Kottke, I., Dexheimer, J. y Botton, B. 1994. Element distribution in mycelium of *Pisolithus arrhizus* treated with cadmium dust. *Annals of Botany*. 74: 137-142.
- Tyler, G., Balsberg Phalsson, A-M., Bengtsson, G., Baath, E. y Tranvik, L. 1989. Heavy-metal ecology of terrestrial plants, microorganisms and invertebrates. *Water Air and Soil Pollution*. 47: 189-215.
- Vázquez, M.D., Poschenrieder, C., Barceló, J., Baker, A.J.M., Hatton, P. y Cope, G.H. 1994. Compartmentation of zinc in roots and leaves of the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* J&C Presl Bot Acta 107: 243-250.
- Wang, Y.P. y Chao, C.C. 1992. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizae and heavy metals on the growth of soybean and phosphate and heavy metal uptake by soybean in major soil groups of Taiwan. *Journal and Agricultural Association of China New Research* 157: 6-20.
- Wenzel, W., Salt, D., Smith, R. y Adriano, D. 1999. Phytoremediation: a plant-microbe based remediation system. En: Adriano DC *et al* (eds.). *Bioremediation of contaminated soils*. SSSA Special Monograph
- Weissenhorn, I., Leyval, C., Belgy, G. y Berthelin, J. 1995a. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. *Mycorrhiza* 5: 245-251.
- Weissenhorn, I., Leyval, C. y Berthelin, J. 1995b. Bioavailability of heavy metals and abundance of arbuscular mycorrhiza (AM) in a soil polluted by atmospheric deposition from a smelter. *Biology and Fertility of Soil* 19: 22-28.
- White, M.C., Decker, A.M. y Chaney, R.L. 1981. Metal complexation in xylem fluid. I: Chemical composition of tomato and soybean stem exudates. *Plant Physiology* 67: 292-300.
- Wilson, J.M. 1984. Comparative development and interaction between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 97: 413-426.
- Woolson, E.A. 1977. Generation of alkylarsines from soil. *Weed Science*. 25: 412-416.
- Zajicek, J. M., Daniels-Hetrick, B.A. y Alvrecht, M.L. 1987. Influence of drought stress and mycorrhizae on growth of two native forbs. *Journal of American Society Horticultural Science*. 112: 454-459.