

# REDUCCION DE LA TOXICIDAD DEL COBRE Y CADMIO EN ALFALFA, MEDIANTE EL USO DE ABONO ORGANICO<sup>1</sup>

## Buffering of copper and cadmium toxicity for lucerne plants, by means of using compost addition

Sergio González M.<sup>2</sup>

### S U M M A R Y

Two pot-experiments, using lucerne plants (*Medicago sativa* cv. Española) as indicators, were conducted to determine absolute maximum Cu and Cd upper critical levels and changes in presence of compost, at La Platina Experimental Station under uncontrolled greenhouse conditions.

Though sensitive to accumulation of both metals in the root growth medium, plants were significantly more affected by Cd when the growth medium was pure sand; thus, the absolute UCL were 4 and 23.5 mg/kg, for Cd and Cu, respectively.

The addition of compost to the root growth medium clearly buffered the phytotoxicity of both metals, showing Cd the highest reduction rate. For this metal, the UCL was increased around 23 times (92.7 mg/kg) whereas the Cu-UCL was increased 9.5 times (225.2 mg/kg).

Chemical analysis of harvested tissues revealed that Cu content did not significantly changed, when Cu content in the growth medium increased up to the UCL; this fact was observed either in pure sand and in sand/compost mixture, reflecting no biomagnification of Cu by lucerne plants. Conversely, under the same conditions, Cd content in green tissues increased several times compared with blank treatments, reflecting high biomagnification of Cd by lucerne plants.

**Key words:** *Medicago sativa*, greenhouse, toxicity, upper critical levels, copper, cadmium, organic compost.

### INTRODUCCION

Al mismo tiempo que el uso intensivo de metales ha traído innegables beneficios para los seres humanos, no puede negarse que las descargas residuales de sus industrias relacionados, han generado procesos contaminantes de amplia cobertura geográfica y de máximo riesgo ambiental y para los seres humanos. Estas descargas hacen que los suelos y las aguas reciban aportes adicionales de metales, lo que podría involucrar que sus concentraciones ambientales alcancen niveles tóxicos.

En los suelos, las cargas metálicas contaminantes tienden a tener largos tiempos de residencia, lo que facilita que los contenidos metálicos se incrementen progresivamente hasta alcanzar y exceder los correspondientes límites máximos de tolerancia (LMT) en los suelos, definidos éstos como la concentración de un metal en el suelo, a partir de la cual, el crecimiento vegetal se reduce en más de un 10%.

Indudablemente, el valor asumido por el LMT será distinto para cada caso de contaminación, emergiendo de la concurrencia de diversas variables, como identidad del metal contaminante, genotipos expuestos, tipo de suelos receptores, entorno climático general y nivel tecnológico del sistema productivo (González, 1991); la modalidad de la descarga definirá el tiempo requerido para alcanzar el LMT.

Uno de los factores edáficos que más regulan la conducta metálica es la materia orgánica, lo que evidencia una alta afinidad entre ambas fases; la regulación de la conducta de los metales en suelos

<sup>1</sup>Recepción de originales: 12 de marzo de 1992.

Estudio parte del Proyecto "Fuentes de contaminación en sectores agrícolas de las Regiones IV a XI, 1987/90", auspiciado por el Fondo de Investigación Agropecuaria (FIA 1/86).

Parte del trabajo presentado en Segunda Conferencia Internacional sobre Biogeoquímica de elementos traza. Taipei, Taiwán R.O.C. 5 al 10 de septiembre de 1993. La participación del autor en esta Conferencia fue posible gracias al auspicio de la Fundación Andes e INIA.

Trabajo analítico, a cargo de Regina Ite D. (Químico Laboratorista) y Ximena Gálvez L. (Técnico Químico).

<sup>2</sup>Estación Experimental La Platina (INIA), Casilla 439, Correo 3, Santiago, Chile.

viene por el hecho que a mayor afinidad, mayor inmovilización de los metales y, en consecuencia, menor movilidad y disponibilidad para las plantas. Por ello, el uso de abonos orgánicos debería permitir reducir la disponibilidad de un metal, con la consiguiente amortiguación de su toxicidad inherente.

El presente trabajo tuvo por objeto, determinar los LMT asociados a Cu y Cd, para plantas de alfalfa cultivadas en arena pura (en este caso, llamados límites absolutos de tolerancias o LAT), y sus posibles cambios, al adicionar abono orgánico a la arena; adicionalmente, se determinó los cambios en los contenidos metálicos de los tejidos cosechados.

## MATERIALES Y METODOS

Durante 1989 y 1990, en la Estación Experimental La Platina, se llevó a cabo dos experimentos en macetas, con el fin de determinar separadamente los límites absolutos de tolerancia (LAT) de Cu y Cd en arena y las variaciones experimentadas por estos límites al agregar abono orgánico al sistema de crecimiento radical. El ensayo se efectuó en invernadero, sin control de condiciones ambientales, usándose macetas plásticas, de 3 kg de capacidad; como indicador biológico, se usó la alfalfa (*Medicago sativa*, cv. Española).

En los tratamientos tendientes a determinar los respectivos LAT, el medio de crecimiento fue arena pura, recolectada desde el lecho del río Maipo, previamente lavada con HCl 0,1N, para remover posibles sales solubles, y enjuagada abundantemente con agua potable y destilada. Para la determinación del efecto del abono orgánico sobre los LAT, se agregó abono a la arena, en relación 1:3 (p:p). El abono provino de la lombricultura anexa a la lechería de la Estación Experimental.

Antes de la siembra, la arena a ser usada pura fue fertilizada con  $\text{KNO}_3$  y superfosfato triple (SFT), a razón de 1,1 y 1 g, respectivamente, por kg arena; la arena a ser usada en mezcla con abono recibió la mitad de la dosis. Con el fin de establecer los tratamientos diferenciales de Cu y Cd, el sustrato radical (arena y arena-abono) fue dosificado con  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  o  $\text{Cd}(\text{COOCH}_3 \times 2\text{H}_2\text{O})$ , de forma de alcanzar tratamientos de 0, 250, 500 y 800 mg de Cu/kg o 0, 50 y 125 mg de Cd/kg; las sales fueron agregadas disueltas en agua, después de lo cual, el sustrato se revolvió hasta obtener una homogénea distribución de la carga metálica.

Se siguió un diseño completamente al azar, con tres repeticiones; semanalmente, se cambió a las macetas de posición, siguiendo un esquema predefinido, de forma de eliminar el efecto por posición. A la siembra, cada maceta recibió 20 semillas, procediéndose al cabo de dos semanas a dejar tres plantas. Los ensayos fueron llevados hasta completar seis cortes de tejidos aéreos.

Las macetas con arena pura fueron regadas una vez al día, con 250 ml de agua, agregando 100 ml de solución nutritiva básica completa (Davis, Beckett y Wolland, 1978), al menos una vez por semana. Las macetas con mezcla arena-abono fueron regadas sólo con agua. Los cortes fueron efectuados a la floración; una vez cosechados, los tejidos fueron enjuagados en agua destilada, secados en estufa a 60 °C hasta peso constante, y pesados. El rendimiento fue calculado como la sumatoria de los seis cortes.

Una vez pesado, el material proveniente de repeticiones fue reunido, de forma de producir una sola muestra por tratamiento, para el posterior análisis químico; esta muestra fue molida mecánicamente y digerida en  $\text{HNO}_3$  concentrado y caliente, bajo reflujo. Luego de filtrado el extracto líquido, fueron procesados vía absorción atómica, en un equipo Perkin Elmer 403, para determinar los contenidos de metales.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Cobre

De acuerdo a la Figura 1, que presenta las curvas de rendimiento de la alfalfa (materia seca acumulada en seis cortes consecutivos), en función de contenidos crecientes de Cu en los dos sustratos radicales empleados (arena y mezcla arena-abono), se desprende que, a pesar de ser un elemento esencial, el Cu puede llegar a detonar efectos tóxicos en las plantas, en función de contenidos excesivos, con respecto a los niveles críticos, en los sustratos radicales.

Si bien la afección del rendimiento se produce en ambos sustratos radicales, es indudable que la mayor tasa de caída en producción de materia seca aérea, se produjo en las plantas cultivadas en arena pura. Las curvas de rendimiento indican claramente que la adición de materia orgánica a la arena, se traduce en una amortiguación significativa de efectos tóxicos que el Cu es capaz de inducir en las plantas de alfalfa.

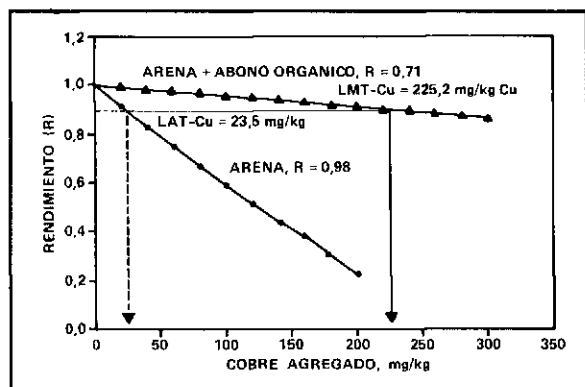


FIGURA 1. Curvas ajustadas de rendimiento de alfalfa, en sustrato radical fortificado con cobre.

FIGURE 1. Adjusted lucerne yield curves, in copper-fortified root growth substrate.

Estos factores quedan plenamente reflejados en los umbrales críticos de toxicidad determinados, tanto para el sistema arena como para la mezcla arena-abono orgánico. Usando arena como sustrato de arraigamiento, el umbral crítico de toxicidad se calculó en 23,5 mg de Cu/kg; al adicionar abono orgánico a la arena, el umbral crítico alcanzó un valor de 225,2 mg de Cu/kg, con una tasa de cambio de +9,5.

Puesto que la arena puede considerarse física y químicamente inerte, una sustancia contaminante presente en este sustrato de arraigamiento, podrá expresar en forma máxima su potencial fitotóxico, viéndose reflejado este hecho en el menor umbral de toxicidad posible para una especie vegetal. Por esta razón, para un nivel crítico obtenido usando arena como sustrato radical, se propone el término "límite absoluto de tolerancia" (LAT); en cualquier otro sustrato, corresponde el término "límite máximo de tolerancia" (LMT).

Los resultados indican que la adición de sustrato orgánico al sistema de arraigamiento, amortigua fuertemente la toxicidad del Cu; por ello, en suelos contaminados con Cu, esta práctica permitiría recobrar, en gran medida, el vigor de las plantas e incrementar sustancialmente el umbral máximo de contenidos inocuos de Cu. Indudablemente, esta reducción de la expresión tóxica del Cu resulta de una menor disponibilidad del Cu para las plantas, producto de una mayor inmovilización de éste, inducida por la materia orgánica.

La Figura 2 muestra las curvas de contenidos de Cu en tejidos verdes, en función del sustrato y adición de Cu. Se deduce que, si bien existe una cierta proporcionalidad entre Cu agregado al sustrato

radical y Cu en tejidos aéreos, los incrementos del contenido foliar de Cu son tan bajos que, al alcanzarse el respectivo umbral crítico, no difieren significativamente con el de las plantas testigo, que fluctúa entre 9 y 10 mg/kg. Es interesante anotar la similitud y paralelismo de ambas curvas, lo que señala una estrecha regulación vegetal sobre la absorción de este metal, independiente del medio en que las plantas crezcan.

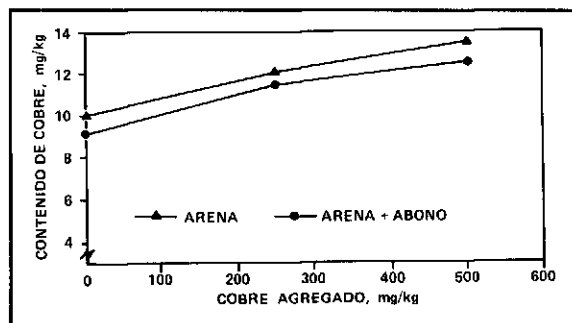


FIGURA 2. Contenido de Cu en tejidos aéreos de alfalfa.

FIGURE 2. Copper content in lucerne aerial tissues.

Esta baja tasa de cambio en la concentración vegetal de Cu, merece un análisis más profundo. Tratándose de un microelemento esencial, pareciera ser absorbido activamente por estas plantas, lo que significa que su absorción queda regulada por procesos radicales selectivos, lo que permite que su concentración biológica se mantenga dentro de rangos de normalidad, aún bajo condiciones de abundante disponibilidad.

Sin embargo, estos procesos regulatorios dejan de ser efectivos si la disponibilidad excede determinados umbrales, correspondientes a los límites de tolerancia, específicos para cada sistema contaminante-plantas-sustrato radical (Mengel y Kirby, 1987; Kabata-Pendias y Pendias, 1985). Así, es posible establecer dos modelos de respuesta de las plantas de alfalfa a la disponibilidad de Cu en el sustrato radical:

- en rango de concentración de Cu, desde normal hasta el LAT o LMT, las plantas no experimentan pérdidas de crecimiento debidas a excesos de Cu y con contenidos normales de Cu en sus tejidos aéreos, y
- en concentración de Cu, por sobre el respectivo umbral crítico, las plantas inician una absorción adicional del metal, que conduce inmediatamente a la pérdida de vigor vegetal y muerte de las plantas, así como a contenidos foliares anormalmente elevados.

Como este modelo conductual de Cu-alfalfa, conocido como de tolerancia por exclusión, también lo muestran otras especies frente al Cu (Chile-INIA, 1986, 1990), podría definirse este metal como de baja capacidad de biomagnificación, con bajo riesgo de transferencia (y amplificación de su concentración biológica), a través de cadenas tróficas hasta alcanzar los eslabones finales, como son los seres humanos. De esta manera, suelos con alta carga cúprica podrían ser mantenidos en producción, siempre que se destinen al cultivo de plantas tolerantes por exclusión al Cu y cuya parte comestible correspondiera a órganos o tejidos aéreos.

**Cadmio**

De acuerdo a la Figura 3, se evidencia que las plantas de alfalfa fueron extremadamente sensibles a la presencia de Cd en el sustrato de desarrollo radical, mostrando una alta tasa de cambio negativa, en función de una concentración creciente de Cd. Indudablemente, las plantas de alfalfa fueron significativamente más sensibles al Cd que al Cu; ello quedó plenamente demostrado por los respectivos valores límites obtenidos usando arena, como sustrato radical: mientras el LAT para el Cu fue 23,5 mg/kg, para el Cd fue sólo de 4 mg/kg, equivalente al 13% del anterior.

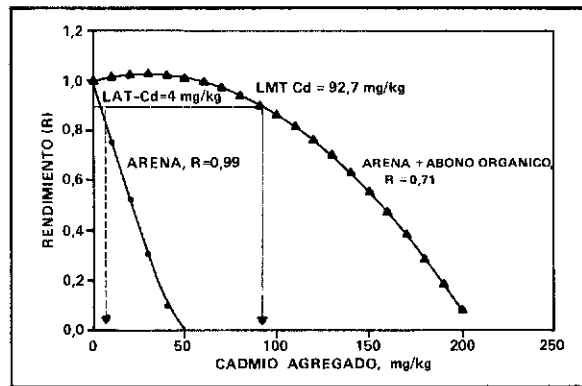


FIGURA 3. Curvas ajustadas de rendimiento de alfalfa, en sustrato radical fortificado con cadmio.

FIGURE 3. Adjusted lucerne yield curves, in cadmium-fortified root growth substrate.

Al igual que para el Cu, la incorporación de abono orgánico al sustrato radical indujo una notoria recuperación de las tasas de crecimiento vegetal, lo que se reflejó en un ascenso del umbral de tolerancia, en este caso LMT, a 92,7 mg de Cd/kg, significando una tasa de amortiguación de la capacidad tóxica de este metal de +23,2. Esta reducción en la toxicidad del Cd fue, prácticamente, el doble a la experimentada por el Cu.

Como indica la Figura 4, en ambos sustratos al ser fortificados con Cd, el contenido de Cd en los tejidos aéreos aumentó dramáticamente, llevando una más rápida progresión en la arena. Esta creciente absorción de Cd, en un primer rango de contenido de Cd en el sustrato radical que se extiende hasta el umbral crítico, no se refleja en una pérdida de vigor vegetal. En el caso de plantas cultivadas en presencia de abono, el contenido de Cd en sus tejidos aéreos aumentó desde no detectado (< 0,01 mg/kg) hasta valores cercanos a 5 mg/kg, al alcanzarse el umbral crítico; en el tratamiento de 125 mg de Cd/kg de arena, el contenido foliar de Cd fue de 6,5 mg/kg.

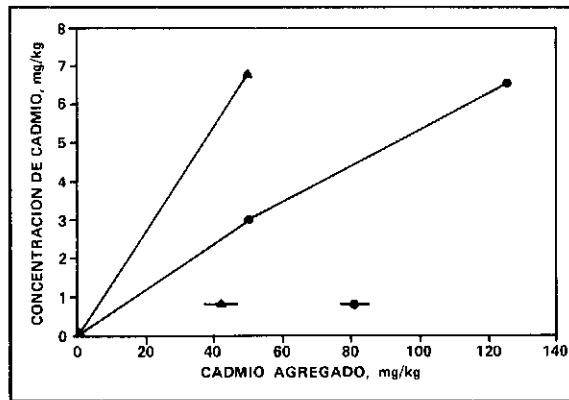


FIGURA 4. Cadmio en tejidos aéreos de alfalfa.

FIGURE 4. Cadmium content in aerial tissues of alfalfa.

Hasta hoy, el Cd es considerado no esencial para las plantas, aunque existe información acerca de algún rol esencial, aunque para ello sería suficiente la concurrencia de cantidades infinitesimales (Regius-Mocsenyi y otros, 1985). Al parecer, a diferencia del Cu, este elemento es absorbido por vía pasiva y translocado hacia las partes aéreas, por el flujo hídrico de la transpiración. Por ello, existe en una estrecha relación entre disponibilidad de Cd en el sustrato radical y concentración de Cd en tejidos vegetales aéreos.

El modelo conductual de la alfalfa, frente a disponibilidad creciente de Cd, presenta las siguientes dos fases:

- una primera, de absorción de Cd proporcional a su disponibilidad, sin pérdida de vigor vegetal, cuando la disponibilidad del metal es menor al umbral crítico, y
- una segunda, de absorción de Cd proporcional a su disponibilidad, con pérdida de vigor y muerte de plantas, cuando la disponibilidad del metal excede el umbral crítico.

Puesto que el LMT está asociado con parámetros cuantitativos de crecimiento, ya que define la máxima concentración en que puede presentarse una sustancia, sin inducir efectos deletéreos en plantas, los resultados indican que es posible la existencia de plantas vigorosas, pero con contenidos internos de Cd incrementados.

Este potencial que posee el Cd para ingresar libremente a los vegetales (sin detonar efectos tóxicos, hasta el correspondiente LMT), es un factor de alto riesgo ambiental, ya que facilita la transferencia de un elemento con alto potencial tóxico, dentro de las cadenas tróficas y, por consiguiente, su impacto en el ser humano. En este caso, el colapso del desarrollo vegetal no tiene la eficiencia que demuestra para el Cu, en evitar la dispersión ambiental del Cd contaminante.

### CONCLUSIONES

- Las plantas de alfalfa fueron sensibles a la acumulación de Cu y Cd en el sustrato radical, siendo claramente más sensibles al segundo metal que al primero.
- Los límites absolutos de tolerancia de Cd y Cu, por plantas de alfalfa, fueron calculados en 25 y 45 mg/kg, respectivamente.
- La adición de abono orgánico a la arena se tradujo en una marcada reducción en la expresión tóxica de ambos metales, siendo ésta más fuerte para el Cu, bajo las condiciones experimentales.
- Por su absorción activa por las plantas de alfalfa, la concentración foliar de Cu tiende a mantenerse constante, al menos, en un rango de disponibilidad radical cuyo límite superior sea el correspondiente LMT.
- Aumentos significativos en la concentración foliar de Cu fueron acompañados del colapso de las plantas de alfalfa, demostrando éste ser una eficiente barrera a la transmisión de excesos de Cu, por cadenas tróficas.
- El Cd, por el contrario, debe ser pasivamente absorbido por las plantas de alfalfa, por lo que su concentración foliar tiende a reflejar su disponibilidad radical.
- Ante una disponibilidad creciente de Cd en el sustrato radical y hasta el correspondiente LMT, pueden existir plantas de alfalfa vigorosas, conteniendo elevadas concentraciones foliares de Cd.
- De acuerdo a lo anterior, es factible la transferencia de la carga de Cd contaminante, a través de cadenas tróficas, hasta alcanzar al ser humano.

### RESUMEN

En la Estación Experimental La Platina, bajo condiciones no controladas de invernadero y con fin de determinar los límites máximos absolutos de tolerancia de Cu y Cd en arena, y sus variaciones al incorporar abono orgánico, se llevó a cabo dos ensayos en macetas, usando alfalfa (*Medicago sativa*, cv. Española) como especie indicadora.

Aunque sensibles a la presencia de ambos metales en el sustrato de crecimiento (arena), las plantas fueron menos tolerantes al Cd que al Cu, lo que se reflejó en los respectivos umbrales críticos (4 y 23,5 mg/kg, respectivamente). La adición de abono orgánico favoreció el crecimiento de las plantas, al amortiguar la toxicidad metálica; así, la adición de abono se tradujo en incrementos de los límites de

tolerancia, en 9,5 veces para el Cu (225,2 mg/kg) y 23,2 veces para el Cd (92,7 mg/kg).

El análisis de los tejidos aéreos cosechados reveló que, al aumentar el contenido metálico en el medio de cultivo hasta el correspondiente límite de tolerancia, el contenido de Cu no varió en forma significativa, lo que revela su no amplificación en plantas de alfalfa. En cambio, bajo las mismas condiciones, el contenido de Cd aumentó varias veces, demostrándose con ello que este metal es ampliamente magnificado por la alfalfa.

**Palabras claves:** *Medicago sativa*, invernaderos, toxicidad, límite de tolerancia, cobre, cadmio, abonos orgánicos.

**LITERATURA CITADA**

---

- CHILE-INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. 1985. Proyecto Contaminación ambiental en el valle Aconcagua. Informe Final. FIA-INIA, Santiago.
- CHILE-INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. 1990. Proyecto Contaminación en sectores agrícolas de las Regiones IV a XI. Informe Final. FIA-INIA, Santiago.
- DAVIS, R.D.; BECKETT, P.H.T. and WOLLAN, E. 1978. Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. *Plant and Soil* 49: 395-408.
- GONZALEZ, S.P. 1991. Upper critical of copper to alfalfa in ten Chilean soils. *Water, Air and Soil Pollution* 57/58: 216-206.
- KABATA-PENDIAS, A. and PENDIAS, H. 1984. Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Ratón (Florida). 315 p.
- MENGEL, K. and KIRBY, E.A. 1987. Principles of plant nutrition, 4th ed. International Potash Institute, Berna. 687 p.
- REGIUS-MOCSENSYI, A.; ANKE, M.; KRONEMANN, H., and SZENTMIHALYI, S. 1985. Allattenyesztes es Takarmanyozas 34: 449.