

GERMINACIÓN Y SUPERVIVENCIA DE DOS ESPECIES VEGETALES EN ALTAS CONCENTRACIONES DE BORO

S. Albarracín Franco¹, M. L. de Viana¹, H. Flores².

1. Instituto de Ecología y Ambiente Humano. 2. Instituto de Beneficios de Minerales.
CIUNSa. Universidad Nacional de Salta,
Buenos Aires N° 177, 4400, Salta, Argentina. mldeviana@arnet.com.ar

RESUMEN En Salta existen extensas superficies contaminadas con boro, producto de la actividad industrial. Una técnica para descontaminar suelos es la fitorremediación. El primer paso es detectar las especies vegetales tolerantes, lo que constituyó el objetivo de este trabajo. Se probaron 18 especies de las que se seleccionaron dos con las que se realizó un bioensayo para evaluar la germinación, supervivencia y crecimiento en diferentes concentraciones de boro (20, 30 y 50 ppm). La concentración de boro en el sustrato se determinó al comienzo y al final del experimento (210 días) para cada tratamiento. Se encontraron diferencias significativas en las variables respuesta debidas al tratamiento, la especie y la interacción especie *tratamiento. La germinación y la supervivencia fue menor en los tratamientos con 30 ppm. *A. quebracho blanco* y *L. multiflorum* redujeron significativamente la concentración de boro en todos los tratamientos. Se concluye que ambas especies son prometedoras en remediación.

Palabras clave: boro, contaminación, especies tolerantes, fitorremediación.

INTRODUCCIÓN

Las plantas pueden asistir en la remediación de sitios contaminados para un amplio rango de contaminantes, tanto de naturaleza orgánica como inorgánica. El empleo de plantas para estimular la remediación de esos químicos en el suelo representa una alternativa de bajo costo y efectiva (Sung et al. 2003; Jones, 1991). Cuando es contrastada con opciones mecánicas de tratamiento, la alternativa de fitorremediación in situ es más económica (Reynolds et al. 1997), no requiere alterar el suelo contaminado y los compuestos peligrosos tienden a permanecer inmobilizados durante el proceso de remediación. En síntesis, los sitios con residuos peligrosos pueden ser más aceptables a la sociedad cuando la vegetación es utilizada en el proceso de descontaminación (Sung et al. 2003). Sin embargo es necesario destacar que esto implica un proceso a largo plazo y que los sitios, si se encuentran en el radio urbano, no pueden ser utilizados en otras actividades relacionadas especialmente con la urbanización, que es más redituable.

La fitorremediación se basa en la capacidad de algunas especies de absorber, transformar, secuestrar o degradar directa o indirectamente algunos contaminantes que se encuentran en la zona radicular (EPA, 2000; Cunningham y Ow, 1996; Raskin, 1996). Una ventaja de la fitorremediación comparada con otras técnicas es que restituye las propiedades funcionales y estructurales del suelo, promueve la actividad de los microorganismos de la rizósfera y es de menor costo comparativo (Trapp y Karlson, 2001).

El boro es un micronutriente esencial para el normal crecimiento de las plantas (Karen y Bingham, 1985). Concentraciones de 0.2 mg B/l son necesarias para la germinación, crecimiento y reproducción de la mayoría de las plantas (Davis et al. 2002). Los límites entre deficiencia y toxicidad son muy estrechos (Gupta, 1983). Concentraciones de 0.3 ppm pueden resultar tóxicas para especies sensibles (Bohn et al. 1993). Los síntomas de toxicidad en las plantas incluyen una reducción del vigor, disminución del desarrollo, necrosis de las hojas y disminución en el número, tamaño y peso de los frutos (Nable et al. 1997; Paull et al. 1992).

Para aplicar esta técnica se seleccionan especies teniendo en cuenta la tolerancia al contaminante, el potencial de evapotranspiración, las enzimas degradativas que producen, las tasas de crecimiento, tipo de crecimiento radicular y capacidad para acumular y/o degradar los contaminantes (Johnson et al. 2004; Jonson et al. 2002; Chappell, 1998). Por lo tanto, el primer paso en la fitorremediación consiste en evaluar la germinación y el crecimiento de distintas especies en experimentos de laboratorio, que serán la base para la toma de decisiones en aplicaciones en campo (Trapp y Karlson, 2001). Este estudio tiene por objeto realizar una selección de especies y evaluar su potencial fitorremediador.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de semillas

Las semillas de las especies nativas empleadas se recolectaron en campañas periódicas que se realizan en el marco del Programa de Investigación 1272 - CIUNSA y PIP 02795 - CONICET, tendiente entre otros objetivos, a organizar un banco de germoplasma de especies arbóreas nativas de Chaco y Yungas. Las semillas de *Lolium multiflorum* (variedad zorro, categoría 2° multiplicación, lote PI 0205), *Medicago sativa* (variedad CUF 101, lote 0206) y *Spinacea oleracea* (sin certificación), fueron adquiridas en un comercio local.

En los experimentos se utilizaron semillas recolectadas en el período 2005-2006 de frutos de 5 árboles diferentes de cada especie y las semillas, extraídas manualmente, se clasificaron y almacenaron en condiciones estándar (Hendry y Grime, 1992) en los laboratorios del INEAH (Instituto de Ecología y Ambiente Humano) de la Universidad Nacional de Salta.

Bioensayos

Se realizó en una primera instancia, un experimento de corta duración para seleccionar especies con tolerancia al boro (germinación en sustratos con 40 y 50 ppm de B (H_3BO_3) diluido en arena esterilizada y suelo extraído de la planta procesadora Baradero¹ al 100, 50, 20, 10 y 5%, mezclado con arena o mantillo. Se probaron 18 especies nativas de hierbas, arbustos y árboles de crecimiento rápido, seleccionadas por sus características bioecológicas y tres especies comerciales tolerantes *Medicago sativa*, *Spinacea oleracea l.* y *Lolium multiflorum Lam.* Este experimento fue la base de selección de las concentraciones de boro y de las especies a probar en un experimento factorial de mayor escala temporal.

En los experimentos se utilizaron germinadores con un fotoperíodo de 12 horas, temperatura media de $25 \pm 2.1^\circ C$ y humedad relativa media de $60 \pm 5.4 \%$. Se siguió un diseño en bloques completos al azar con dos factores: especie vegetal y tratamiento (concentración de boro 0, 20, 30 ppm B y suelo de Baradero 50 ppm (5% diluido en arena o mantillo 95%), con diez repeticiones para cada tratamiento. Dentro del diseño experimental se utilizaron dos controles (arena y mantillo), debido a que se emplearon dos sustratos diferentes. Todas las semillas utilizadas fueron sumergidas durante un minuto en una solución de NaClO al 10 % para evitar el ataque de hongos en el experimento.

En cada unidad experimental (recipientes plásticos de 10 X 15 X 3 cm.), se colocaron 10 semillas de cada especie, utilizando como sustrato 200 gr de arena previamente esterilizada en autoclave (1 atm. y $120^\circ C$, durante 1 hora y posteriormente secada en estufa a $130^\circ C$ durante 18 hs). A cada recipiente se le adicionó la concentración de boro correspondiente. Las soluciones para cada tratamiento se prepararon a partir de una solución madre de B (H_3BO_3 Merck pro análisis) de 1000 ppm, la que fue diluida con agua destilada hasta obtener la concentración correspondiente. El riego se realizó diariamente con agua destilada y una vez emergidas las plántulas se complementó con 55 ml de solución nutritiva Rorisson (Hendry y Grime, 1993), sin B (a excepción de los tratamientos control), por semana. Durante un período de 30 días se registró diariamente el número de semillas germinadas, tomando como indicador la emergencia de la radícula.

Al finalizar el experimento (210 días), se midió para cada plántula, la longitud, tanto aérea como radicular, con calibre digital. Esta medida fue utilizada como estimador de la inversión de los productos fotosintéticos en el crecimiento de las plántulas (Hendry y Grime, 1993).

Determinación de boro en el sustrato

El boro se determinó al comienzo y final del experimento en el sustrato por colorimetría a 420 nm. (4802 UV/VIS Double Beam Spectrophotometer) con el método de Azomethina-H (Rump y Krist, 1992).

Análisis de los datos

Para cada especie y tratamiento se estimó el porcentaje y velocidad de germinación hasta los 30 días y la supervivencia a intervalos mensuales hasta finalizar el experimento (210 días). La velocidad de germinación (S), se estimó según Ahmed y Wardle (1994) como:

$$S = [N_1 / 1 + N_2 / 2 + N_3 / 3 + \dots + N_n / n] \times 100 \quad (1)$$

donde $N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$ es la proporción de semillas que germinaron en los días 1, 2, 3, ..., n durante el bioensayo. S varía entre 100 (si todas las semillas germinan el primer día) y 0 (si las semillas no germinaron al final del experimento).

¹El suelo se extrajo del predio donde operó la planta procesadora de boratos Baradero, se recolectaron 100 muestras de suelo tomadas a 30 cm. de profundidad, de 200 gr cada una, siguiendo la técnica de extracción del INTA- Cerrillos (Ortega y Corvalán, 1992).

Las variables respuesta se compararon para las especies y los tratamientos con M (ANOVA) de dos factores (Systat, 1992).

Se aplicó un índice de toxicidad que permite discriminar la sensibilidad o la tolerancia de distintas especies vegetales a un contaminante. El índice varía entre 0 y 100 y reflejan inhibición o su ausencia respectivamente. Los valores intermedios muestran niveles diferentes de tolerancia. Es relevante en la predicción de especies que pueden sobrevivir en ambientes contaminados o que sean tolerantes en determinadas condiciones de contaminación (Hendry y Grime, 1993). El índice se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de tolerancia (\%)} = \frac{\text{longitud aérea} / \text{longitud total} + \text{boro}}{\text{longitud aérea} / \text{longitud total} - \text{boro}} \times 100 \quad (2)$$

RESULTADOS

De las dieciocho especies probadas, germinaron once en las tres concentraciones empleadas. Para el bioensayo de mayor escala temporal se seleccionaron *A. quebracho blanco* y *L. multiflorum*, ya que fueron las especies que germinaron y presentaron el máximo porcentaje de sobrevivientes en 40 ppm de boro y en la dilución al 5% del suelo de Baradero (con una concentración de boro de 50 ppm) (Tabla 1).

Especies	40 ppm		50 ppm	5 % Baradero (50 ppm)	
	Germ. (%)	Superv. (%)	Germ. (%)	Germ. (%)	Superv. (%)
<i>Acacia aroma</i>	30	0	20	30	0
<i>Acacia caven</i>	30	0	20	40	0
<i>Acacia praecox</i>	30	0	30	30	0
<i>Bahinia forticata</i>	0	0	0	0	0
<i>Canna indiga</i>	0	0	0	0	0
<i>Caesalpinia paraguariensis</i>	0	0	0	0	0
<i>Crotalaria insignis</i>	0	0	0	0	0
<i>Crotalaria micans</i>	0	0	0	0	0
<i>Dichondra sericea</i>	0	0	0	0	0
<i>Jacaranda mimosifolia</i>	50	20	30	40	20
<i>Nicotiana glauca</i>	50	40	20	50	40
<i>Opuntia sp</i>	0	0	0	0	0
<i>Sesbania punicea</i>	70	0	20	80	20
<i>Tecoma stans</i>	40	30	20	40	20
<i>Aspidosperma quebracho bl</i>	70	70	50	80	80
<i>Lolium multiflorum</i>	80	80	40	90	90
<i>Medicago sativa</i>	50	30	40	40	30
<i>Spinacia oleracea</i>	50	30	40	40	20

Tabla 1. Porcentaje de germinación y supervivencia a los 30 días en el experimento de selección de especies en 40 y 50 ppm de boro y en suelo diluido de Baradero.

Las dos especies seleccionadas para el bioensayo mostraron diferencias en las variables respuesta analizadas. En *A. quebracho blanco* la germinación comenzó en el segundo día de iniciado el experimento, fue menor al 60% en 30 ppm de boro y superó el 80% en los demás tratamientos. La germinación en *L. multiflorum* comenzó también a partir del segundo día, fue máxima y sin diferencias entre los tratamientos (Figura 2).

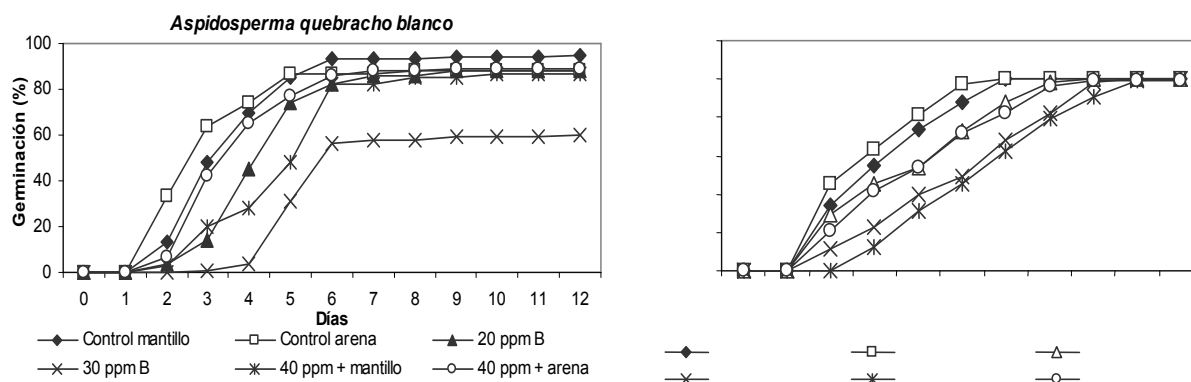


Figura 2. Porcentaje acumulado de germinación de las especies en los distintos tratamientos con boro.

Respuestas fenotípicas notorias se registraron en los distintos tratamientos a partir de la tercera semana: los ápices de los cotiledones y de las hojas presentaron clorosis, que se mantuvo hasta el final del experimento. Al principio la toxicidad del

boro comenzó con clorosis en el ápice de las hojas viejas. Posteriormente, se extendió al resto del limbo foliar, desde el ápice hacia la base (clorosis marginal) y de las márgenes del limbo hacia el nervio principal (clorosis intervenal). Las raíces de las plántulas de ambas especies fueron blancas y en *A. quebracho blanco* de gran longitud, además de la ausencia de raicillas laterales en las mayores concentraciones de boro.

Se encontraron diferencias significativas en la germinación a los 20 días con relación a la especie ($F = 47.201$, $P < 0.0005$), al tratamiento ($F = 10.131$, $P < 0.0005$) y a la interacción especie*tratamiento ($F = 3.604$, $P < 0.0005$). La germinación fue menor en *A. quebracho blanco* en comparación con *L. multiflorum*. Ambas especies mostraron una disminución en la germinación con el aumento en la concentración de boro. En los tratamientos de suelo Baradero mezclado con mantillo la germinación fue menor que en los suelos Baradero mezclados con arena (Tabla 2).

A. quebracho blanco presentó diferencias significativas en la germinación según los tratamientos ($F = 6.891$, $P < 0.0005$). Tuvo una alta tolerancia al contaminante en los tratamientos de 20 ppm de boro y en las diluciones del suelo de Baradero. En cambio en el tratamiento de 30 ppm de boro, presentó un menor porcentaje de germinación. Esta especie presentó un comportamiento germinativo diferente con respecto al tipo de sustrato. El control mantillo presentó mayor porcentaje de semillas germinadas que el control arena. Es decir que en el control mantillo la germinación fue superior en un 8% al control arena. En el tratamiento de 20 ppm de boro presentó casi el mismo porcentaje de germinación. En cambio en el tratamiento de 30 ppm de boro hubo una disminución del 31% de la germinación con respecto al control arena. Comparando los tratamientos (20 y 30 ppm de boro) hubo una disminución del 29% de semillas germinadas con el aumento de la concentración. En los tratamientos de 50 ppm de boro mezclado con mantillo hubo una disminución del 9% con respecto al control mantillo. En cambio, en los tratamientos de 50 ppm mezclado con arena no se encontraron diferencias en la germinación con relación al control arena (Tabla 2).

L. multiflorum mostró una gran tolerancia al boro en todas las concentraciones probadas. También presentó diferencias significativas en la germinación según los tratamientos ($F = 6.544$, $P < 0.0005$), con una ligera disminución (9%) de la germinación en la concentración de 30 ppm de boro (Tabla 2).

Tratamiento / var. Respuesta	<i>A. quebracho blanco</i>		<i>L. multiflorum</i>	
	Germinación (%)	Velocidad de germinación	Germinación (%)	Velocidad de germinación
Control mantillo	96 (1.6)	28.1 (0.8)	100	33.6 (1.0)
Control arena	88 (3.3)	32.1 (1.4)	100	36.7 (0.6)
20 ppm de boro	90 (3.3)	21.3 (1.0)	100	30.2 (0.8)
30 ppm de boro	61 (7.8)	11.2 (1.5)	92 (2.9)	23.1 (0.7)
50 ppm + mantillo	87 (4.7)	19.5 (1.8)	100	19.4 (0.4)
50 ppm + arena	88 (4.7)	25.2 (1.9)	99 (1)	28.1 (0.7)

Tabla 2. Porcentaje y velocidad de germinación de las especies en los distintos tratamientos a los 20 días del bioensayo (Media con error estándar entre paréntesis)

En cuanto a la velocidad de germinación se encontraron diferencias significativas, con relación a la especie ($F = 71.196$, $P < 0.0005$), al tratamiento ($F = 65.674$, $P < 0.0005$) y a la interacción especie*tratamiento ($F = 6.865$, $P < 0.0005$). La velocidad de germinación fue menor en *A. quebracho blanco* en comparación con *L. multiflorum*. Ambas especies mostraron una disminución en la velocidad de germinación con el aumento en la concentración de boro. En los tratamientos de suelo mezclado con mantillo la velocidad de germinación fue menor que en los suelos mezclados con arena (Tabla 2).

En el análisis para cada especie *A. quebracho blanco* presentó diferencias significativas ($F = 25.525$, $P < 0.0005$) entre tratamientos. La velocidad de germinación en el tratamiento de 20 ppm de boro disminuyó un 34% con respecto al control arena, en cambio en el tratamiento de 30 ppm disminuyó un 62%. En el tratamiento de 50 ppm mezclado con mantillo se registró un 31 % menos de semillas germinadas con respecto a su control y, en el tratamiento de 50 ppm mezclado con arena se registró un 22% menos de semillas germinadas con relación al control arena (Tabla 2).

También *L. multiflorum* presentó diferencias en la variable analizada ($F = 78.571$, $P < 0.0005$). Con el aumento de la concentración de boro, disminuyó la velocidad de germinación en un 19% en 20 ppm de boro y un 37% en 30 ppm de boro con respecto al control. En el tratamiento de 50 ppm mezclado con mantillo la variable analizada disminuyó un 42% con respecto a su control, en cambio el tratamiento mezclado con arena disminuyó un 23% en relación al control arena. Es decir que el sustrato mantillo provocó una disminución en la velocidad de germinación (Tabla 2).

Con relación al porcentaje de sobrevivientes se encontraron diferencias significativas debidas a la especie ($F = 47.634$, $P < 0.0005$), al tratamiento ($F = 4.448$, $P < 0.0005$), aunque no en la interacción especie*tratamiento ($F = 1.559$, $P = 0.178$). La supervivencia hasta los 210 días del experimento fue elevada en todos los tratamientos a excepción del tratamiento de 30 ppm de boro.

A. quebracho blanco presentó diferencias significativas ($F = 2.359$, $P < 0.0005$) en la variable analizada. La supervivencia fue inferior al 55% en 30 ppm de boro con respecto a los demás tratamientos. A diferencia de la velocidad de germinación, la supervivencia fue mayor (aunque no significativa) en el suelo de Baradero mezclado con mantillo. Un patrón similar se encontró en *L. multiflorum* ($F = 3.645$, $P = 0.007$), aunque la supervivencia fue mucho mayor. En la concentración de 30 ppm de boro la cantidad de sobrevivientes fue la menor pero alcanzó un 85% (Tabla 3).

Tratamiento	Número de plántulas sobrevivientes	
	<i>A. quebracho blanco</i>	<i>L. multiflorum</i>
Control mantillo	8.5 (0.3)	10
Control arena	6.9 (0.4)	10
20 ppm de boro	7.3 (0.5)	10
30 ppm de boro	4.2 (0.9)	8.5 (0.6)
50 ppm + mantillo	7.4 (0.7)	10
50 ppm + arena	6.3 (0.7)	9.9 (0.1)

Tabla 3. Número de plántulas sobrevivientes de las dos especies hasta los 210 días. (Media con error estándar entre paréntesis).

A. quebracho blanco presentó diferencias significativas entre tratamientos tanto en la longitud aérea como radicular ($F=12.770$, $P<0.0005$; $F=2.393$, $P=0.037$, respectivamente). En esta especie el crecimiento radicular fue mayor que el aéreo y la mayor longitud se registró en los sustratos con mantillo. El crecimiento aéreo presentó un comportamiento similar. En el tratamiento de 20 ppm de boro la longitud total de la especie disminuyó un 14 % con respecto al control arena. En la longitud aérea disminuyó un 35% y en la radicular un 7% con relación al control arena. En cuanto a la longitud total dentro de la especie, la longitud aérea representa un 31% y la radicular un 69%. En el tratamiento de 30 ppm de boro la longitud total disminuyó un 27% en relación a su control. La longitud aérea y radicular disminuyeron un 44% y un 21% respectivamente con respecto al control. En la especie la longitud aérea representa un 32% y la radicular un 68% (Figura 2).

En el tratamiento de 50 ppm mezclado con mantillo, la longitud total disminuyó un 2% con relación al control mantillo. La prolongación aérea disminuyó un 3% y un 2% la radicular con respecto al control. En esta especie, la longitud aérea representa un 35% y la radicular un 65%. En el tratamiento de 50 ppm mezclado con arena, la longitud total disminuyó un 24% en relación al control arena. La extensión aérea disminuyó un 42% y la radicular un 2%, con respecto al control. En relación a la longitud total en la especie, la aérea representa un 28% y la radicular un 72% (Figura 2).

L. multiflorum presentó también diferencias significativas en el crecimiento aéreo ($F=14.620$, $P<0.0005$) y en el radicular ($F=28.859$, $P<0.0005$). En esta especie, el crecimiento aéreo fue mayor que el radicular, especialmente en el sustrato con arena. En el tratamiento de 20 ppm de boro la longitud total de la especie disminuyó un 28 % en relación al control. Con respecto a la longitud aérea disminuyó un 24% y la radicular un 42% en relación al control. De la longitud total de la especie, la aérea representa un 78% y la radicular un 22%. En el tratamiento de 30 ppm de boro la longitud total disminuyó un 43% con respecto al control arena. La longitud aérea y radicular disminuyó un 41% y un 49% respectivamente en relación con el control. En la especie la longitud aérea representa un 76% y la radicular un 24% (Figura 3).

En el tratamiento de 50 ppm mezclado con mantillo, la longitud total disminuyó un 11% con relación a su respectivo control. La longitud aérea disminuyó un 10% y un 14% la radicular con respecto al control. La longitud aérea representa un 81% y la radicular un 19%. En el tratamiento de 50 ppm mezclado con arena, la longitud total disminuyó un 14% en relación al control arena. La extensión aérea disminuyó un 11% y la radicular un 24%, con respecto al control. En relación a la longitud total en la especie, la aérea representa el 76% y la radicular el 24% (Figura 3).

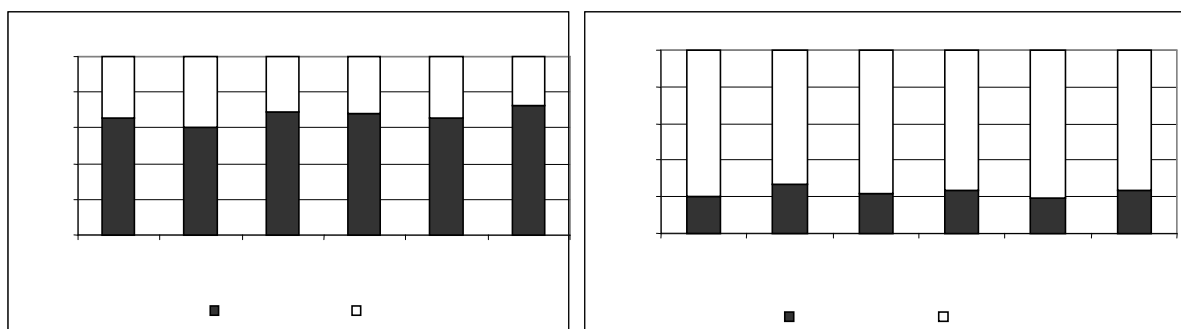


Figura 2. Porcentaje de crecimiento aéreo y radicular de las plántulas en los distintos tratamientos.

La sensibilidad de las especies en las distintas concentraciones de boro en relación a los controles respectivos, muestra que ambas son tolerantes e incluso que *L. multiflorum* tiene creció más en los sustratos contaminados. En 20 ppm de boro, el crecimiento fue máximo y mínimo, aunque superior al control en 50 ppm con mantillo. *A. quebracho blanco* presentó mayor sensibilidad que *L. multiflorum*, aunque también es una especie tolerante a elevadas concentraciones de boro, en especial cuando el sustrato es mantillo.

Tratamientos	Índice de tolerancia al boro (%)	
	<i>A. quebracho blanco</i>	<i>L. multiflorum</i>
20 ppm de boro	79.42 (1.36)	106.74 (2.92)
30 ppm de boro	80.10 (1.05)	103.90 (1.62)
50 ppm + mantillo	99.86 (0.46)	101.02 (2.34)
50 ppm + arena	70.23 (0.45)	104.08 (0.88)

Tabla 5. Índice de la tolerancia al boro de las especies en los distintos tratamientos calculado en base al crecimiento. (Media con error estándar entre paréntesis).

Determinación de boro en sustrato

Se encontraron diferencias significativas en la concentración de boro en los sustratos para los distintos tratamientos en *A. quebracho blanco* ($F = 180.310$; $P < 0.0005$), con una gran reducción de la concentración de boro en los tratamientos de 20 y 30 ppm de boro. En *L. multiflorum* también se encontraron diferencias significativas ($F = 319.018$; $P < 0.0005$), con la mayor disminución de boro en los tratamientos de 20 y 30 ppm de boro. La disminución de boro en los sustratos fue menor en los tratamientos con mantillo contaminado (Figura 3).

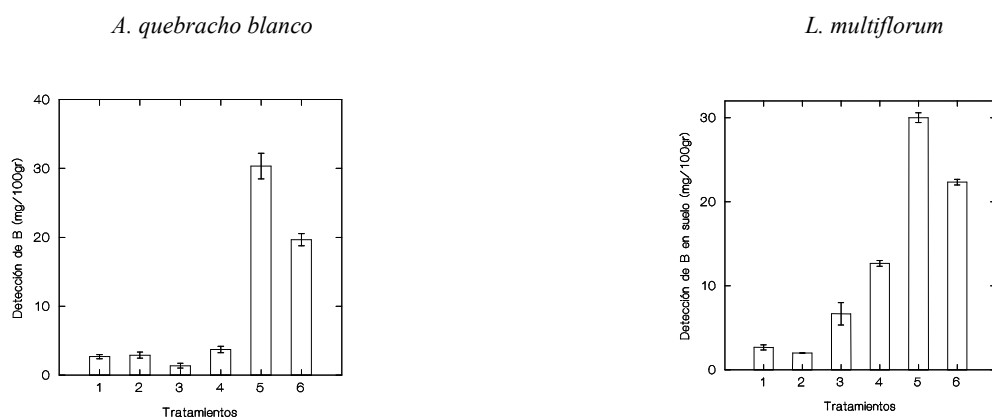


Figura 2. Detección de boro en los sustratos.

Tratamientos: 1: control mantillo, 2: control arena, 3: 20 ppm, 4: 30 ppm, 5: 50 ppm+mantillo, 6: 50ppm + arena.

En el mantillo se detectó una concentración de 4 ppm de boro y al agregar 7 ppm de boro con la solución nutritiva Rorison durante todo el bioensayo, se tiene una concentración total de 12 ppm de boro. Al final del experimento se detectó en los controles de mantillo en las dos especies un 32% de la concentración de boro total aplicada. Es decir que la disminución del micronutriente en el sustrato fue al menos del 68% para las dos especies (Tabla 6).

En arena no se detectó presencia de boro al comienzo del experimento, es decir que la concentración de boro total adicionada fue de 7 ppm. Al finalizar el experimento se detectó un 41% en *A. quebracho blanco* y un 29% en *L. multiflorum*, es decir que la disminución de boro en los controles varió entre un 59% en *A. quebracho blanco* y un 71% en *L. multiflorum* (Tabla 6).

En los sustratos contaminados con 20 ppm de boro, las menores concentraciones se detectaron en los sustratos con *A. quebracho blanco* con un 7% y en *L. multiflorum* con un 34% con respecto a la concentración de boro adicionada al sustrato (según las determinaciones al inicio del experimento). Es decir que luego de 210 días, la disminución en la concentración del contaminante en el sustrato varió en las especies con una disminución máxima del 93% con *A. quebracho blanco* y del 66% con *L. multiflorum*. En los tratamientos de 30 ppm de boro, al cabo de los 210 días, la concentración detectada fue del 12% con *A. quebracho blanco* y del 43% con *L. multiflorum*. Es decir que al final del bioensayo la reducción de boro detectado fue de 88% en *A. quebracho blanco* y de 57% en *L. multiflorum* (Tabla 6).

En los tratamientos con suelo de Baradero diluido con arena se detectó un 41% con *A. quebracho blanco* y 46% con *L. multiflorum* con respecto al determinado inicialmente. Por lo tanto al final del bioensayo la disminución del contaminante en estos tratamientos fue de un 59% con *A. quebracho blanco* y de un 54% en *L. multiflorum*. En los tratamientos con suelo Baradero diluido con mantillo al cabo de 210 días, la reducción de boro detectada en *A. quebracho blanco* fue 59% y en *L. multiflorum* de 54% (Tabla 6).

Tratamiento / var. respuesta	Determinación de boro (mg B/kg de suelo)	
	<i>A. quebracho blanco.</i>	<i>L. multiflorum</i>
Control mantillo	3.8 (0.2)	3.8 (0.2)
Control arena	2.9 (0.4)	2
20 ppm de boro	1.4 (0.5)	6.7 (1.3)
30 ppm de boro	3.7 (0.4)	12.7 (0.3)
50 ppm + mantillo	30.3 (1.8)	30 (0.6)
50 ppm + arena	19.7 (0.9)	22.3 (0.3)

Tabla 6. Concentración de boro en los sustratos al final del experimento (Media con error estándar entre paréntesis). Análisis por triplicado.

CONCLUSION

Las concentraciones empleadas en este trabajo superan ampliamente los límites establecidos en la Ley Nacional de Argentina 24.051 de Residuos Peligrosos en su Decreto Reglamentario 831/93, que considera al boro como un residuo peligroso señalando un valor límite de 2ug/g de peso seco de boro para suelos de uso agrícola. El boro ejerce un efecto tóxico en la mayoría de las especies cuando está presente en el agua y/o suelo en concentraciones que superen los 4 ppm.

Si bien son escasos los trabajos publicados de tolerancia al boro, resultados similares a los de este trabajo fueron obtenidos por Bañuelos *et al.* (1999), que emplearon dos germoplasmas de tomate, maíz y alfalfa, obteniendo porcentajes de germinación superiores al 60% en 20 y 40 ppm de boro, a los ocho días. Si bien realizaron experimentos de mayor duración en invernadero, no presentan datos de supervivencia que permitan la comparación.

Nuestros resultados indican que *A. quebracho blanco* y *L. multiflorum* son especies prometedoras para ser empleadas en remediación de suelos con concentraciones de boro hasta 50 ppm.

En los tratamientos de 20 y 30 ppm de boro presentaron una gran reducción del contaminante, siendo mayor en *A. quebracho blanco*.

En los sustratos contaminados mezclados con mantillo fue menor la reducción de boro producida por ambas especies que en los sustratos mezclados con arena. Esto puede deberse a que los coloides húmicos tienen mayor capacidad de retención del contaminante.

A. quebracho blanco tiene características ecológicas que son de importancia a la hora de seleccionar especies tolerantes para remediación *in situ*, las raíces se extienden en profundidad y horizontalmente y al ser una especie longeva, podrían secuestrar y mantener el contaminante en su biomasa, por un período de tiempo prolongado (superior a los 50 años), con la ventaja adicional que se podría incorporar la recuperación de sitios contaminados en programas relacionados con secuestro de carbono, en el marco del Protocolo de Kyoto.

L. multiflorum es una forrajera anual con una alta tasa de crecimiento inicial, por lo que, luego de un corto período, podrían incorporarse especies más sensibles al contaminante pero de crecimiento más lento.

Es importante realizar experimentos de mayor escala espacial y temporal, incorporando también combinaciones de especies.

Concluimos que estas especies pueden ser utilizadas en la remediación de suelos contaminados con boro.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente a Horacio Flores, Hugo González y Enrique Soria del IMBEMI (Instituto de Beneficio de Minerales de la Universidad Nacional de Salta) por el apoyo brindado en la realización de las determinaciones de boro en las muestras de suelo.

REFERENCIAS

- Ahmed M. y Wardle D.A. (1994). Allelopathic potencial of vegetative and flowering ragwort (*Senecio jacobea* L.) plants against associated pasture species. *Plant Soil* 64: 61-68.
- Bañuelos G.S., Ajwa H.A., Caceres L. y Dyer D. (1999). Germination responses and boron accumulation in germplasm from Chile and United States grown with boron-enriched water. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 43: 62-67.
- Bohn H.L., McNeal B.L. y O'Connor G.A. (1993). Química del suelo. Ed. Limasa.S.A.
- Chappel J. 1998. (USEPA) Technology Innovation Office (TIO), Washington, DC 20460. Homepage: <http://clu-in.org>
- Cunningham S.D. y Ow D.W (1996). Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiol.* 110: 715-719.

- Davis S., Drake K. y Maier K. (2002). Toxicity of boron to the duckweed, *Spirodella polyrrhiza*. Chemosphere 48: 615-620.
- EPA (Environmental Protection Agency). 2000. Introduction to Phytoremediation. EPA-report EPA/600/R-99/107. Mai 2003 at <http://clu-in.org/techpubs.htm>
- Gupta U.C. (1983). Boron deficiency and toxicity symptoms for several crops as related to tissue boron levels. Plant Nutrition 6: 387-395.
- Hendry G.A.F y Grime J.P. (1993). Methods in comparative plant ecology. Chapman & Hall. London, London, UK
- Jones K.C. (1991). Organic contaminants in the environment. New York: Elsevier App. Sci. 189-206.
- Jonson D.L., Jones K.C, Langdon C.J., Pearce T.G y Semple K.T (2002). Temporal changes in earthworm availability and extractability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. Soil. Biol. Biochem. 34: 1363-1370.
- Johnson D.L., Maguire K.L, Anderson D.R. y McGrath S.P. (2004). Enhanced dissipation of chrysene in planted soil: the impact of a rhizobial inoculum. Soil Biol. Biochem. 36: 33-38.
- Karen E. y Bingham F.T. (1985). Boron in Water, Soils and Plants. Advances in Soil Science 1: 230-276.
- Nable R.O., Bañuelos G.S. y Paull J.G. (1997). Boron toxicity. Plant Soil 198: 181-198.
- Ortega A. y Corvalán E. (1992). Diagnósticos de suelos. Laboratorio Central de Análisis, INTA Cerrillos. Salta.
- Paull J.G., Nable R.O. y Rathjen A.J. (1992). Physiological and genetic control of the tolerance of wheat to high concentrations of boron and implications for plants breeding. Plant Soil 146: 251-260.
- Raskin I. (1996). Plant genetic engineering may help with environmental cleanup. Proceedings of the National Academy of Sciences 93: 3164-3166.
- Reynolds C.M., Bhunia P y Koenen B.A. (1997). Soil remediation demonstration project: biodegradation of heavy metal oils, Special report 97-20, US Army Corps of Engineers, Cold regions research & Engineering Laboratory.
- Rump H.H y Krist H. (1992). Laboratory manual for the examination of water, waste and soil. VCH, 2nd Edition.
- Sung K., Munster C.L., Rhykerd R., Drew M.C y Yavuz Corapcioglu M. (2003). The use of vegetation to remediate soil freshly contaminated by recalcitrant contaminants Water Research 37: 2408-2418.
- Systat (1992). SYSTAT for Windows: statistics, version 5 edition. SYSTAT, Evanston, Illinois, USA.
- Trapp S. y Karlson U. (2001). Aspects of Phytoremediation of organic pollutants. Soil & Sediments 1 1: 37-43.

ABSTRACT In Salta there are extensive areas polluted with boron, product of the industrial activity. A technique used to decontaminate soils is phytoremediation. The first step is to detect the tolerant plant species, which was the objective of this work. 18 species were proven of which two were selected to run a bioassay in order to study germination, survival and growth in different boron concentrations (20, 30 and 50 ppm). Boron concentration in the substrates were determined at the beginning and the end of the experiment (210 days) for each treatment. We found significant differences in the response variables due to treatment, species and interaction species *treatment. Germination and survival was smaller in the treatments with 30 ppm. *A. quebracho blanco* and *L. multiflorum* significantly reduced boron concentration in all the treatments. We conclude that both species are promising in remediation.

Key words: boron, contamination, tolerant species, phytoremediation.