

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO Y RUTAS DE ACUMULACIÓN DE α -, β -, γ - Y δ -HEXACLOROCICLOHEXANO EN EL SISTEMA SUELO-PLANTA DE UNA ZONA CONTAMINADA

R. Calvelo Pereira¹, M. C. Monterroso Martínez¹, M. Camps Arbestain², F. Macías¹.

¹ Laboratorio de Tecnología Ambiental. Instituto de Investigaciones Tecnológicas. Universidad de Santiago de Compostela, 15782-Santiago de Compostela, Spain

² Institute of Natural Resources, Massey University, Private Bag 11222, Palmerston North 4442, New Zealand

E-mail contacto: roberto.calvelo@usc.es

RESUMEN: En este trabajo se investiga el comportamiento de los isómeros principales del pesticida organoclorado hexaclorociclohexano (HCH) en suelo, rizosfera y vegetación, a través del muestreo de una zona contaminada y el diseño de un experimento en campo con dos especies vegetales (*Cynara scolymus* L. y *Erica* sp.) en condiciones de crecimiento contaminado y no contaminado. La concentración del HCH total ($\alpha+\beta+\gamma+\delta$ -HCH) alcanzó niveles elevados en el suelo (30 000 mg kg⁻¹). Las especies vegetales analizadas acumulaban preferentemente β -HCH en sus tejidos (especialmente aéreos). Las rutas de acumulación de HCH son: i) sorción en las raíces del HCH a partir del suelo (ruta suelo \rightarrow raíz), ii) sorción a través de la biomasa aérea a partir del aire circundante (ruta suelo \rightarrow aire \rightarrow tallos/hojas), tras volatilización y/o deposición de partículas. En un estudio pormenorizado del efecto rizosfera, se sugiere que las raíces tienden a reducir los niveles de los isómeros de HCH en la rizosfera.

Palabras clave: Lindano, Planta, Suelo

ABSTRACT: In this paper, the behaviour of the main isomers of hexachlorocyclohexane (HCH) in soil, rhizosphere and vegetation is studied by sampling a contaminated aerea and by designing a field experiment two plant species (*Cynara scolymus* L.; *Erica* sp.) growing in contaminated and not contaminated soil. The concentration of total HCH ($\alpha+\beta+\gamma+\delta$ -HCH) was high in soils (up to 30 000 mg kg⁻¹). The plants analyzed showed a preferential accumulation of β -HCH (especially in above-ground parts). The routes of HCH accumulation are: HCH sorption in roots from contaminated soil (route soil \rightarrow root), ii) sorption in aerial biomass from surrounding contaminated air (route soil \rightarrow air \rightarrow shoots/leaves), after volatilization and/or particle deposition. In a detailed study of rhizosphere effect, it is suggested that plant roots tend to decrease the levels of HCH isomers in rhizosphere.

Key word: Lindane, Plant & Soil.

INTRODUCCIÓN

El hexaclorociclohexano (HCH) es un pesticida obtenido a partir de la cloración de benceno en presencia de luz, de gran toxicidad y persistencia, muy utilizado en el pasado (Turnbull, 1996; Vijgen, 2006). Existen ocho isómeros (α -, que posee dos enantiómeros, β , γ , δ , ϵ , η , y θ), con la misma fórmula molecular (1-, 2-, 3-, 4-, 5-,

6-hexaclorociclohexano), diferenciándose en la posición axial-ecuatorial de los átomos de cloro (Matolcsy *et al.*, 1988). Inicialmente se obtiene una mezcla de los diferentes isómeros, conocida comercialmente como HCH técnico (65-70% de α -HCH, 7-10% de β -HCH, 7% de δ -HCH, 1-2% de ϵ -HCH, <2% η - y θ -HCH; Willet *et al.*, 1998). El isómero gamma es el responsable de la actividad biocida y ha sido comercializado con el

nombre genérico de lindano (99% de γ -HCH; Metcalf, 1955, Walker *et al.*, 1999). El éxito de estos productos favoreció la instalación de industrias de fabricación y formulación de lindano por todo el mundo, una de ellas localizada en O Porriño, Pontevedra, desde 1947 (Eptisa, 1999). La producción de lindano implica la obtención de un conjunto de residuos enriquecidos en los isómeros de HCH sin propiedades insecticidas, de composición muy variable (USC, 2003). Estos residuos, antiguamente, se vertían sin control en las zonas circundantes a las fábricas, causando la contaminación del medio (Hernández *et al.*, 1991; Crespo González *et al.*, 2001; USC, 2003). Por otro lado, el HCH ha sido aplicado directamente como insecticida en suelos agrícolas (Harner *et al.*, 1999); es posible, asimismo, su deposición de modo disperso mediante el transporte a larga distancia (Wania y Mackay, 1995; van Pul *et al.*, 1999).

En el suelo, los isómeros de HCH o bien se adsorben a las partículas (materia orgánica, arcillas), o bien son retirados a través de diferentes procesos (volatilización, degradación microbiana, lixiviación, absorción radicular; Fabre *et al.*, 2005). Esta distribución, con el tiempo, ocasiona una contaminación a nivel global de aguas, suelos, y organismos vivos (Li, 1999). Estos compuestos presentan una gran tendencia a la concentración en los horizontes superficiales de los suelos, acentuada por la incorporación de la hojarasca en descomposición contaminada con HCH (Horstmann y McLachlan, 1996). Con el paso del tiempo, la biodisponibilidad de estos compuestos disminuye con el efecto de "envejecimiento" y la formación de los denominados residuos enlazados, lo que ocurre durante los procesos de descomposición y humificación de la materia orgánica (Alexander, 2000). Tradicionalmente, se ha investigado cada

compartimento del medio por separado sin tener en cuenta las múltiples relaciones que se establecen entre los mismos (Simonich y Hites, 1995). En este sentido, la vegetación tiene un papel clave como un sumidero y punto de distribución de contaminación (Muir *et al.*, 1993; Simonich y Hites, 1994). La plantas resisten elevadas cargas contaminantes y al mismo tiempo pueden utilizarse para recuperar el suelo afectado (fitocorrección: Pilon-Smits, 2005).

Por un lado, existe una **ruta suelo-planta** por la que los compuestos orgánicos presentes en el suelo próximo a las raíces pueden (i) ser absorbidos por las plantas y transportados hacia los tejidos aéreos vía xilema (en función del compuesto; Burken y Schnoor, 1998; Burken, 2003) o bien (ii) ser adsorbidos sobre los tejidos de la raíz, a través de un reparto agua: superficie de la raíz (Dietz y Schnoor, 2001). Este último proceso cobra gran importancia para compuestos hidrofóbicos como el HCH, dado que la absorción se ve muy limitada. Las interacciones entre la raíz y la zona de suelo que la rodea (**rizosfera**), pueden afectar al comportamiento de los contaminantes, al modificar las propiedades fisicoquímicas del sistema, introduciendo cambios en los microorganismos y en la acumulación de pesticidas (Anderson *et al.*, 1993; Pinton *et al.*, 2001; Davis *et al.*, 2002). Este "**efecto rizosfera**" se limita al pequeño volumen de suelo afectado por los compuestos vegetales liberados con diferentes tasas (rizodepositos: mucílago, enzimas, ácidos orgánicos, aminoácidos, entre otros; Pinton *et al.*, 2001).

Por otro lado, la **ruta aire-planta** es la vía de entrada de la contaminación en la biomasa aérea vegetal en el caso de compuestos lipofílicos (Schreiber y Schönherr, 1992; Welsch-Pausch *et al.*, 1995; Rüdél, 1997). Existen dos mecanismos principales: (i) volatilización del contaminante a partir de



FOTO1. Aspecto de la parcela experimental en O Porriño tras el acondicionamiento.

la superficie del suelo y posterior adsorción foliar (deposición gaseosa); y (ii) reparto de HCH entre partículas suspendidas en la atmósfera contaminadas con HCH y la superficie de las plantas (deposición particulada). La acumulación de HCH en la parte aérea de las plantas depende de las propiedades fisicoquímicas del isómero que se considere, así como de las propiedades de la superficie vegetal (cutícula) (Schwarz y Jones, 1997).

El **objetivo** de este trabajo es investigar las concentraciones de los isómeros mayoritarios de HCH α -, β -, γ -, y δ -HCH en suelos, rizosfera y vegetación localizados en un lugar contaminado por la presencia de residuos de fabricación de lindano. Se investiga el reparto y acumulación *in situ* de los isómeros de HCH en el sistema suelo-planta-aire, considerando las dos principales rutas de entrada de HCH en la vegetación (suelo \rightarrow planta; aire \rightarrow planta). Asimismo, se ha pretendido realizar una valoración cualitativa de la importancia relativa de cada una de las rutas, mediante el diseño de un experimento en campo con dos especies vegetales de características contrastadas, alcachofa (*Cynara scolymus* L.) y brezo (*Erica* sp.). Finalmente, se presentan los datos de un estudio centrado en el papel de la rizosfera en el reparto del HCH en el sistema suelo-planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Trabajo de campo

Actividades previas

Este estudio se ha llevado a cabo en una parcela de 3560 m², contaminada con residuos procedentes de la producción de lindano, localizada en O Porriño, Pontevedra (Foto 1). La precipitación anual media y la temperatura media de la zona son, respectivamente, 1 504 mm y 14.4°C; la variación anual es considerable, con mínimas precipitaciones y máximas temperaturas en Julio-Septiembre (Martínez Cortizas y Pérez Alberti, 1999). Los suelos de la zona (Tecnosoles Urbicos y/o Regosoles Técnicos; WRB, 2006) derivan de sedimentos aluvio-coluviales que presentan una textura heterogénea, generalmente gruesa. El perfil tipo es ABC, con horizontes bien diferenciados (Foto 2). La heterogeneidad de los suelos es muy grande; la zona ha sufrido episodios de relleno de materiales y movimiento de tierras. El pH del horizonte superficial de estos suelos varía entre 5.0 y 6.2 (valor medio: 5.4); el contenido de carbono orgánico varía entre 1.1 y 7.1% (media: 3.7%); la relación C:N oscila entre 14 y 37 (media: 20). La capacidad de intercambio de cationes efectiva (CICE) es

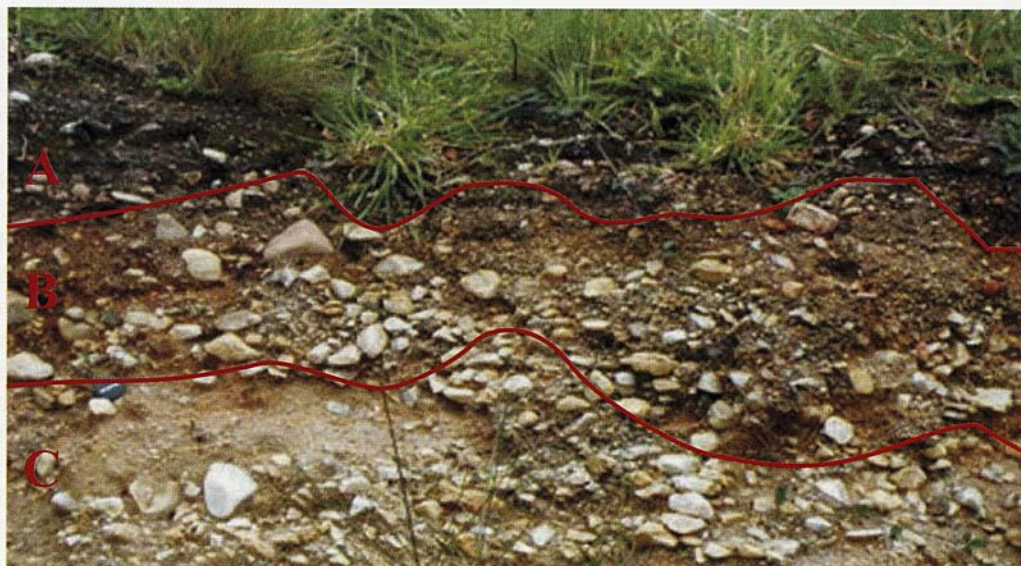


FOTO 2. Perfil característico de los suelos de la parcela contaminada (Tenosoles Úrbicos y/o Regosoles Técnicos).

muy variable, con tendencia a valores muy bajos (media: $6.8 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$) (USC, 2003; Calvelo Pereira, 2008). En abril de 2001 se procedió a desbrozar la vegetación y allanar la superficie de la parcela experimental. En junio de 2001 se realizaron tareas agrícolas de arado (30 cm), encalado y fertilización del terreno, para mejorar las condiciones, tras lo cual se realizó una siembra homogénea con mezcla de dos especies: *Vicia sativa* L. y *Avena sativa* L.

Muestreo de suelos y vegetación por transectos

En octubre de 2001 se tomaron muestras del horizonte superficial (20 cm) del suelo en 18 puntos distribuidos en dos transectos dentro de la parcela experimental. En 8 puntos de muestreo se recogieron plantas enteras de las especies más comunes en toda la parcela: *Avena sativa* L., *Chenopodium* spp., *Solanum nigrum* L. y *Cytisus striatus* (Hill) Roth., así como de *Vicia sativa* L. Esto se corresponde con una caracterización general de la zona de estudio.

Diseño del experimento en campo

Se escogieron dos especies vegetales alóctonas (obtenidas en vivero): (i) *Cynara scolymus* L. (alcachofa), una planta generalmente bianual, con bajo contenido en lignina en sus tejidos y gran superficie foliar; y (ii) *Erica* sp. (brezo), un arbusto de lento crecimiento, con tallo lignificado y hojas pequeñas y con ceras (superficie foliar reducida). En junio de 2002, la zona del experimento se dividió en 4 mallas de 4 x 3 metros. En cada malla se colocaron 12 plantas (seis de *Cynara scolymus* L. y seis de *Erica* sp.) al azar, con una distancia de 1 m entre cada planta (o submalla). La mitad de las plantas de cada especie se colocaron directamente en el suelo contaminado de la parcela (tratamiento sin maceta, “tratamiento SM”); la otra mitad de las plantas se colocaron en macetas (material plástico, con drenaje facilitado) rellenas con un compost comercial libre de HCH utilizado en jardinería (tratamiento con maceta, “tratamiento CM”), que se introdujeron en el suelo contaminado en la misma malla

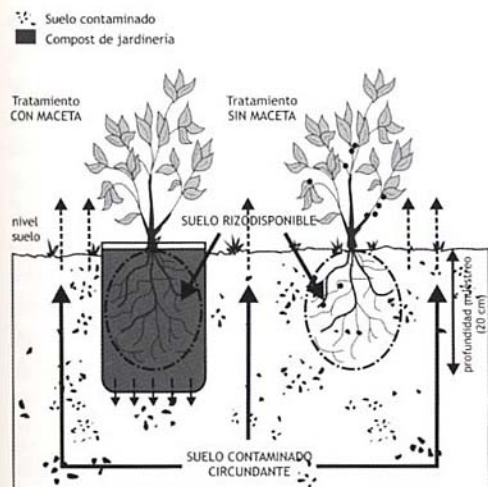


FIGURA 1. Descripción del experimento en campo; suelos considerados en el estudio.

(Figura 1; Foto 3). El compost presentaba las siguientes propiedades: pH, 6.4; $\approx 15\%$ C, 0.82% N. Con este diseño, en teoría, todas las plantas estaban expuestas al aire contaminado de la zona durante todo el estudio, mientras que sólo la mitad de ellas tenían un contacto directo con el suelo contaminado a través de las raíces (tratamiento SM); el confinamiento en las macetas en la otra mitad de las plantas impedía dicho contacto (tratamiento CM). Se aseguró un riego semanal para evitar problemas de sequía. Las plantas de *Cynara scolymus* L. fueron recogidas en Agosto de 2002 (evitando así daños derivados del calor), mientras que las plantas de *Erica* sp. fueron recogidas en Octubre.

Estudio del efecto rizosfera

Para llevar a cabo un estudio pormenorizado de la rizosfera, en el momento del muestreo por transectos, se seleccionaron plantas de *Avena sativa* L. y *Cytisus striatus* (Hill) Roth (leguminosa, espontánea en la zona contaminada), dado que se establecieron en las áreas más contaminadas de la parcela. De cada especie se recogieron tres cepellones

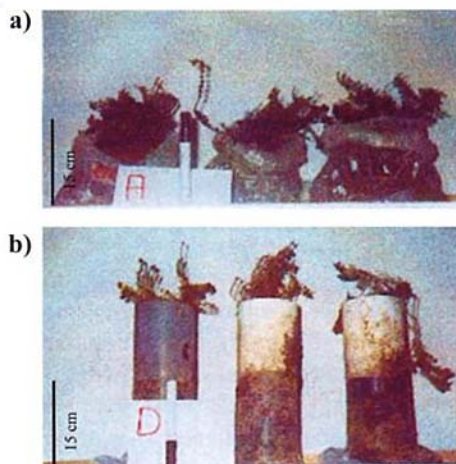


FOTO 3. Aspecto de las plantas en el momento de finalización del experimento en campo: a), tratamiento SM; b) tratamiento CM. Ejemplo: *Erica* sp.

enteros y se separaron en **suelo de cepellón** (sin contacto con la raíz; suelo del entorno de la raíz), **rizosfera** (suelo adherido a las raíces) y **raíz**. En un muestreo posterior de una zona similar de la parcela se pudieron recoger y tratar del mismo modo dos nuevas muestras de cada una de las especies, completando así un número representativo de réplicas ($n = 5$). En el tratamiento de algunas de las muestras se perdió la correspondiente parte aérea, no siendo posible presentar esos datos.

Tratamiento de muestras

Todas las muestras de suelo se secaron al aire, se tamizaron por 2 mm y se molieron ($<50 \mu\text{m}$) para posteriores análisis. Todas las plantas se lavaron para eliminar las partículas de suelo adheridas a su superficie y se separaron en las diferentes fracciones considerando los tejidos principales (raíz, tallo y hojas o bien raíz y parte aérea). Las muestras de vegetación se secaron a temperatura ambiente para evitar una pérdida excesiva del contaminante por volatilización; finalmente se molieron y almacenaron para su análisis posterior.

En lo que respecta al experimento en campo, cabe considerar que antes de la colocación del ensayo, se tomaron muestras de suelo de todas las submallas que se corresponden con cada una de las plantas colocadas (muestras representativas de un área de 1 x 1 m), considerando que estos niveles de HCH constituyen la fuente potencial de HCH en el suelo capaz de contaminar la atmósfera que rodea a las plantas: **suelo contaminado circundante** (Figura 1). Al final del período del experimento (44 días en el caso de *Cynara scolymus* L. y 135 días para *Erica* sp.), se recogieron todas las plantas, separando los tejidos. Se muestreo también el suelo del cepellón de cada planta individual: **suelo rizodisponible** (Figura 1). El tratamiento de cada tipo de muestra (suelo, vegetación) fue el mismo que el descrito previamente.

En la obtención de la **rizosfera** se utilizó una versión modificada del método de agitación de Chung y Zasozki (1994); el paso que implica un secado de las raíces y suelo adherido a 60°C no fue utilizado (Camps Arbertain y col, 2003).

Análisis de HCH en suelos y vegetación

Reactivos utilizados. α -HCH (98.7% de pureza) de Riedel-de-Haën AG; β -HCH (98.1% de pureza) de Riedel-de-Haën AG; γ -HCH (99% de pureza) de Sigma; δ -HCH (98.6% de pureza) de Riedel-de-Haën AG; 2,4,5,6,-Tetracloro-*m*-xileno (TCMX) de Supelco (Bellefonte, PA, USA); Sulfato sódico anhidro (Na_2SO_4) (99% de pureza) de Panreac; Hexano (C_6H_{14}) (95% de pureza) de Fluka; Acetona ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$) (99.5% de pureza) de Fluka; Acetato de etilo ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) (99.8% de pureza) de Sigma; Cartuchos Sep Pak® 20 cc (5 g) Florisil®; Alúmina (Al_2O_3) (neutra) de Sigma.

Método de extracción de HCH en suelos

i. Extracción en hexano:acetona (1:1): HCH. Las muestras de suelo secadas y

tamizadas por luz de malla 2 mm fueron molidas para reducir el tamaño de partícula (hasta < 50 μm). Se extrajeron 0.2 g de muestra con 15 mL de una disolución de hexano:acetona (1:1, v/v) en un baño de ultrasonidos (30 minutos), se pasaron por filtros de fibra de vidrio, se enrasaron a 25 mL con hexano; el extracto se diluyó a niveles dentro del rango adecuado para la posterior determinación cromatográfica. Los extractos se conservaron en nevera a -4°C. Esta extracción se realizó en todas las muestras de suelo consideradas en este estudio.

ii. Extracción en agua: HCH₁₂₀. En el caso de las muestras del estudio pormenorizado de la rizosfera de *Avena* y *Cytisus*, se determinó adicionalmente la concentración de los isómeros de HCH solubles en agua. Se extrajeron 0.2 g de muestra de suelo seco, tamizado y molido con 15 mL de agua destilada en un baño de ultrasonidos (30 minutos), se pasaron por filtros de fibra de vidrio y enrasó a 25 mL con agua destilada. Este extracto se centrifugó a 4000 rpm durante 12 minutos y se filtró de nuevo. Finalmente se realizó una extracción de una alícuota con hexano (1:2, v/v), diluyendo a niveles dentro del rango adecuado para la determinación cromatográfica. Los extractos se conservaron en nevera a -4°C.

Método de extracción de HCH en matrices vegetales

Se tomaron 0.3 g de muestra seca y molida de las distintas fracciones y se extrajeron en 15 mL de disolvente orgánico (disolución de hexano:acetona 1:1, v/v) en horno microondas. Posteriormente se secaron con sulfato sódico anhidro, filtrándose el extracto. Se procedió, a continuación, a pasos sucesivos de purificación en cartucho de Florisil (5 g) y Alúmina (2 g), eluyendo con 35 mL de hexano:acetato de etilo (80:20). Se enrasaron finalmente a 50 mL con hexano y se procedió a diluir los extractos dentro del

rango lineal. Los extractos se conservaron en nevera a -4°C . Esta analítica fue realizada en el Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidade de A Coruña.

Procedimiento de análisis cromatográfico.

Para realizar la identificación y cuantificación de los distintos isómeros de HCH se utilizó un equipo de cromatografía de gases con detector de captura electrónica (GC/ECD). El cromatógrafo de gases es un modelo GC 8532 Mega 2 series (Fisons Instruments, Milan, Italia) equipado con un detector de captura electrónica modelo ECD 850 (Thermo Quest, Milan, Italia). Se trabajó con un equipo de inyección automática (modelo AS 800, Fisons Instruments, Milan, Italia) de tipo split/splitless en modo splitless. El volumen de inyección utilizado fue de $1\ \mu\text{L}$. Para la separación de los distintos isómeros se usó una columna capilar Rtx®-CIPesticides (Restek Corporation, E.E.U.U. Bellefonte, PA) de 30 m de longitud x $0.25\ \text{mm}$ de diámetro interno, con una fase estacionaria adosada al capilar. La temperatura de inyección es de 270°C y la temperatura del detector, de 300°C . Como gas portador se usó helio (He), con una presión de 115 KPa, y como gas auxiliar del detector se usó nitrógeno (N_2), con una presión de 105 KPa. Se trabajó en condiciones de gradiente de temperatura, con un programa que partía de 60°C (3 min) con una rampa de temperatura de $30^{\circ}\text{C}\ \text{min}^{-1}$, hasta 180°C (0 min), luego una segunda rampa de $6^{\circ}\text{C}\ \text{min}^{-1}$, hasta 230°C (0 min), para finalizar con una rampa de $30^{\circ}\text{C}\ \text{min}^{-1}$ hasta 270°C (4 min). Las curvas de calibración se obtuvieron por inyección de disoluciones patrón en hexano de la mezcla de los 4 isómeros, preparadas a partir de una disolución inicial de $500\ \text{mg}\ \text{L}^{-1}$ en acetona, de concentraciones 5, 10, 25 y $50\ \mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$. El 2,4,5,6,-Tetracloro-m-xileno (TCMX) se utilizó como patrón interno en el análisis de muestras de vegetación.

Tratamiento estadístico de los datos

Los datos fueron normalizados (transformación logarítmica, Log_{10}) antes de la utilización de un test t de Student o un análisis de la varianza (ANOVA) para ver las diferencias significativas entre grupos/tejidos. Cuando los datos de concentración mostraron una gran dispersión se ha optado por utilizar el dato de mediana y no el de media.

RESULTADOS

Niveles generales de HCH en suelos y plantas

La concentración de HCH total (suma de α - + β - + δ - + γ -HCH) en los primeros 20 cm de suelo en el muestreo por transectos oscila en unos márgenes muy amplios (entre 2 y $19\ 905\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$) (Tabla 1). Los isómeros α y β son mayoritarios en todas las muestras analizadas (entre 1 y $> 13\ 000\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$) mientras que las concentraciones de los isómeros menos abundantes, γ - y δ -HCH, son inferiores a $15\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$ (Tabla 1). La distribución relativa de los isómeros con respecto al HCH total es diferente a la distribución característica en el residuo original encontrado en la parcela experimental de O Porriño. El porcentaje de α -HCH tiende a descender, mientras que el porcentaje del isómero β -HCH aumenta de modo claro, desde un 16% del HCH total en el residuo hasta el 38% en los suelos (valores medios; Figura 2).

La concentración del HCH total en las muestras vegetales de las especies analizadas varía entre 1.6 y $63\ \text{mg}\ \text{kg}^{-1}$ (Tabla 1). Existe una correlación significativa entre las concentraciones de HCH en suelos y tejidos vegetales (β -HCH: $r > 0.500$; significativo a $P < 0.05$, en todos los tejidos; Calvelo Pereira *et al.*, 2006). Las mayores concentraciones se han encontrado en las partes aéreas de todas las especies vegetales muestreadas; las concentraciones medias de HCH total en raíces, tallos y hojas, respectivamente,

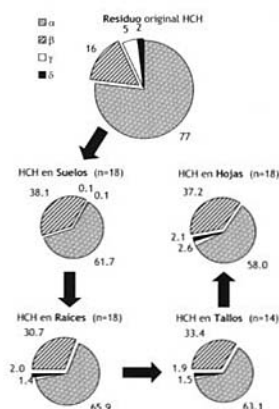


FIGURA 2. Distribución en porcentaje de los isómeros de HCH en los suelos y tejidos vegetales (raíz, tallo, hojas), comparada con la distribución de HCH en el residuo original de Torneiros, O Porriño (Pontevedra).

TABLA 1. Concentraciones mínima, máxima, media y mediana (mg kg^{-1}) de los isómeros de HCH individuales y del HCH total (suma de $\alpha + \beta + \gamma + \delta$) extraídos con hexano:acetona en los suelos y en los diferentes tejidos vegetales (raíces, tallos, hojas) de las plantas analizadas en el muestreo preliminar; n es el número de muestra utilizadas en cada caso.

n		mínimo	máximo	media geométrica	media aritmética.	d.s. ¹	mediana
Suelo 18	HCH total	1.9	19 904.6	38.7	1 234.6	4 665.9	31.6
	α	1	13 375.0	10.3	762.1	3 147.9	9.6
	β	0.9	6 512.5	23.8	469.8	1 522.7	10.5
	γ	0.1	11.3	0.7	1.9	3.2	0.7
	δ	0.1	9.9	0.5	1.7	2.8	0.8
Raíz 18	HCH total	1.7	29.8	7.3	9.7	7.7	6.2
	α	1	10.1	2	2.6	2.4	1.8
	β	0.7	18.9	4.6	6.7	5.5	4.2
	γ	0.1	0.4	0.1	0.1	0.1	0.1
	δ	0.1	0.8	0.1	0.2	0.2	0.1
Tallo 14	HCH total	1.6	20.5	8	9.7	5.6	10.1
	α	0.7	4.4	2.1	2.4	1.2	1.9
	β	0.4	15.6	5	7	4.6	8.0
	γ	0.1	0.4	0.1	0.1	0.1	0.1
	δ	0.1	0.9	0.1	0.2	0.2	0.1
Hoja 18	HCH total	3.7	62.5	16.7	21.1	14.6	18.6
	α	2.5	18.7	6.2	7.2	4.1	6.3
	β	0.9	40.3	8.9	12.9	10.1	11.1
	γ	0.1	1.4	0.4	0.5	0.4	0.3
	δ	0.1	2.2	0.3	0.5	0.5	0.3

¹d.s. desviación estándar.

6, 10 y 22 mg kg⁻¹ (Tabla 1). Este patrón de distribución del HCH se reconoce en todas las especies analizadas, independientemente del nivel de contaminación (Calvelo Pereira *et al.*, 2006). En general, α - y β -HCH son los isómeros mayoritarios en los tejidos vegetales; las mayores concentraciones se corresponden con β -HCH (Tabla 1). Los isómeros minoritarios, γ - y δ -HCH, se acumulan en todas las plantas pero en concentraciones bajas (<3 mg kg⁻¹; Tabla 1).

La distribución relativa de los isómeros de HCH en los tejidos vegetales es diferente con respecto a la descrita en los suelos. El isómero β -HCH es el más abundante, seguido por el isómero α -HCH, pero con patrones diferentes (Figura 2). En las raíces, el isómero β -HCH constituye hasta un 66% del HCH total, siendo menor en tallo y las hojas (Figura 2). El isómero α -HCH presenta una acumulación relativa mayor en la parte aérea, con porcentajes medios de α -HCH relativo al HCH total de 37, 33 y 31% en hojas, tallo y raíces, respectivamente (Figura 2).

Experimento en campo

HCH en el suelo circundante

La concentración de HCH total en el suelo circundante en el área del experimento en campo varía entre 14 y 34 673 mg kg⁻¹ (Tabla 2). Los isómeros mayoritarios son α - y β -HCH; las concentraciones oscilan mucho (α -HCH, entre 4 y 27 510 mg kg⁻¹; β -HCH, entre 5 y 6 738 mg kg⁻¹). Los isómeros minoritarios, γ - y δ -HCH, se encuentran en un rango de concentraciones más pequeño, entre 0.1 y 740 mg kg⁻¹ para γ -HCH y entre 0.1 y 98 mg kg⁻¹ para δ -HCH (Tabla 2). La distribución en porcentaje de los isómeros de HCH en el suelo es similar a la comentada, con una tendencia aumento del porcentaje del isómero β -HCH (Calvelo Pereira *et al.*, 2008).

HCH en el suelo rizodisponible

Al finalizar el experimento, la concentración de HCH total en el suelo rizodisponible de *Cynara scolymus* L. varía entre 2 y 10 411 mg kg⁻¹ (media: 1 808 mg kg⁻¹) en el tratamiento SM; en el suelo rizodisponible CM, la concentración de HCH total oscila entre 0.6 y 113 mg kg⁻¹ (media: 12 mg kg⁻¹) (Tabla 2). Al final de experimento, la concentración de HCH cercana a las raíces de las plantas de *Cynara scolymus* L., en ambos tratamientos, es inferior al menos en un orden de magnitud a los niveles detectados en las muestras del suelo contaminado del entorno (Tabla 2). El suelo rizodisponible SM tiene un porcentaje medio significativamente mayor de β -HCH que el correspondiente porcentaje en el suelo circundante (69% comparado con 27%; P<0.05). Por otro lado, el porcentaje medio de α -HCH es significativamente inferior (28% frente a 72%; P<0.05) (Tabla 2; Calvelo Pereira *et al.*, 2008). Este patrón se puede observar, aunque no tan claramente, en el suelo rizodisponible CM. En relación con los isómeros minoritarios, la distribución es muy heterogénea, apreciándose un incremento del porcentaje del isómero δ -HCH en todos los suelos al final de experimento, especialmente en los suelos rizodisponibles CM (Tabla 2).

La concentración de HCH total de los suelos rizodisponibles SM bajo las plantas de *Erica* sp. varía entre 3 y 3 379 mg kg⁻¹ (media: 798 mg kg⁻¹); en el tratamiento CM, el rango oscila entre 0.6 y 3 252 mg kg⁻¹ (media: 278 mg kg⁻¹) (Tabla 2). La contaminación observada al final del experimento para *Erica* (135 días) es un orden de magnitud mayor que la contaminación observada para *Cynara* (44 días). En todo caso, hay un aumento de la presencia relativa de β -HCH en el suelo rizodisponible en ambos tratamientos, SM y CM, al finalizar el experimento (Tabla 2; Calvelo Pereira *et al.*, 2008).

TABLA 2. Concentración mínima, máxima, media y mediana (mg kg⁻¹) del HCH total (suma de $\alpha+\beta+\gamma+\delta$ -HCH) y de los isómeros individuales en el experimento en campo: suelo circundante y suelo rizodisponible.

SUELO CIRCUNDANTE						
		mínimo	máximo	media	d. s. ¹	mediana
n=48	HCH total	13.8	34 672.8	4 391.7	8 452.9	358.1
	α	4.1	27 510.0	3 354.5	6 806.0	151.0
	β	4.7	6 738.0	986.6	1 678.5	169.1
	γ	0.1	740.0	40.4	117.0	2.3
	δ	0.1	97.8	10.2	19.1	1.7
SUELO RIZODISPONIBLE						
		Tratamiento SIN MACETA				
		mínimo	máximo	media	d. s.	mediana
<i>Cynara</i>	HCH total	2.3	10 410.6	1 808.3	3 120.5	322.5
n=12	α	0.2	4 711.7	807.7	1 435.0	93.2
	β	2.0	5 137.1	929.2	1 533.9	226.4
	γ	<l. d. ²	154.1	23.5	47.5	3.4
	δ	0.1	407.7	51.8	120.4	2.1
<i>Erica</i>	HCH total	3.2	3 379.2	798.3	1190.5	19.4
n=12	α	0.2	1 604.0	346.2	592.3	2.1
	β	2.2	1 962.7	426.6	633.6	16.7
	γ	0.1	52.3	9.9	16.8	0.1
	δ	0.2	80.4	15.5	24.8	1.3
		Tratamiento CON MACETA				
		mínimo	máximo	media	d. s. ¹	mediana
<i>Cynara</i>	HCH total	06	113.2	12.3	31.9	2.3
n=12	α	0.1	73.5	7.2	21.0	0.7
	β	0.2	37.2	4.7	10.4	0.9
	γ	<l.d.	1.0	0.3	0.4	0.1
	δ	0.1	1.6	0.3	0.5	0.2
<i>Erica</i>	HCH total	0.6	3 252.3	278.1	936.7	3.8
n=12	α	0.2	2 676.8	224.4	772.3	0.8
	β	0.1	559.4	51.8	160.0	2.3
	γ	0.1	13.9	1.8	4.6	0.3
	δ	<l.d.	2.2	0.6	0.6	0.5

¹ d. s. desviación estándar; ² <l. d. inferior al límite de detección (0.1 mg kg⁻¹).

HCH en la vegetación: raíces

La concentración de HCH total en los tejidos de la raíz de *Cynara scolymus* L. oscila entre 8 y 25 mg kg⁻¹ (media: 16 mg kg⁻¹), en las plantas SM y entre 2 y 8 mg kg⁻¹ (media: 4 mg kg⁻¹) en las plantas CM; la diferencia entre tratamientos es significativa (P<0.05) (Figura 3; Tabla 3). El isómero β es el isómero dominante en la mayoría de las muestras de raíz (78 - 83% del HCH, valores medios, SM y CM, respectivamente; Calvelo Pereira *et al.*, 2008). La concentración de HCH total en las raíces de las plantas de *Erica* sp. varía entre 11 y 338 mg kg⁻¹ (media: 89 mg kg⁻¹) en las plantas SM y entre 4 y 86 mg kg⁻¹ (media: 23 mg kg⁻¹) en las Plantas CM; la diferencia entre tratamientos es significativa (P<0.05) (Tabla 3). De nuevo la contribución del isómero β -HCH al HCH total en los tejidos radiculares supone más del 70% en ambos tratamientos (Calvelo Pereira *et al.*, 2008).

HCH en la vegetación: biomasa aérea

La concentración de HCH total en la biomasa aérea (tallo+hojas) de las plantas de *Cynara* varía entre 11 y 117 mg kg⁻¹ en el tratamiento SM y entre 10 y 199 mg kg⁻¹ en tratamiento CM (Tabla 3). La concentración media de β -HCH en estos tejidos (40.3 mg kg⁻¹ en SM y 43 mg kg⁻¹ en CM) es significativamente mayor que la concentración de α -HCH (22 mg kg⁻¹ en SM y 25 mg kg⁻¹ en CM) (P<0.05; tratamiento SM), si bien la diferencia entre tratamientos no lo es. El isómero β -HCH es el mayoritario (Tabla 3). La concentración de HCH total en los tejidos aéreos de *Erica* sp. oscila en un rango amplio (11 - 503 mg kg⁻¹, plantas SM; 3 - 387 mg kg⁻¹, plantas CM; Tabla 3). α - y β -HCH constituyen el 95% del HCH total; la concentración media de β -HCH (114 mg kg⁻¹) era significativamente mayor que la concentración media de α -HCH (31 mg kg⁻¹) (tratamiento SM; P<0.05) (Tabla 3).

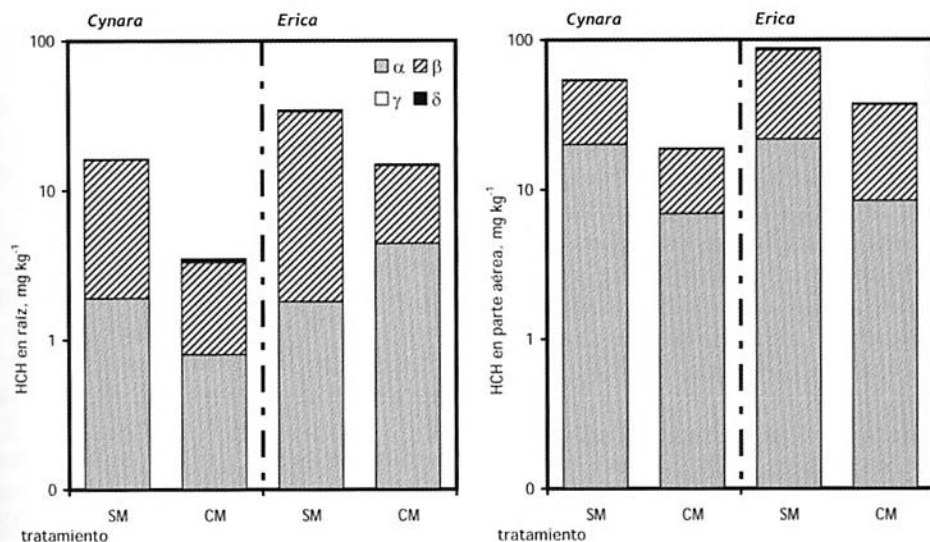


FIGURA 3. Concentración (valores de la mediana, mg kg⁻¹) de los isómeros de HCH mayoritarios en los tejidos vegetales (raíces, parte aérea) para cada especie y tratamiento al finalizar el experimento en campo. n=6; SM, tratamiento Sin Maceta; CM, tratamiento Con Maceta.

TABLA 3. Concentración mínima, máxima, media y mediana (mg kg^{-1}) del HCH total (suma de $\alpha+\beta+\gamma+\delta$ -HCH) y de los isómeros individuales en las muestras de vegetación al final del experimento en campo.

Tratamiento		SIN MACETA					CON MACETA				
		mínimo	máximo	media	d. s. ¹	mediana	mínimo	máximo	media	d. s.	mediana
<i>Cynara</i> Raíces	HCH total	8.4	24.5	16.1	6.4	16.5	1.6	8.0	3.9	1.9	3.7
	α	1.3	5.7	2.5	1.5	1.9	0.3	1.1	0.7	0.3	0.8
	β	7.0	20.9	13.3	5.2	14.1	1.1	6.8	3.1	1.7	2.5
	γ	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	<l.d. ²	0.1	0.1	0.1	0.1
	δ	0.1	0.4	0.2	0.1	0.2	<l.d.	0.1	0.1	0.1	0.1
Biomasa aérea	HCH total	11.0	116.7	64.3	44.9	54.3	10.2	199.1	68.5	72.3	17.6
	α	4.8	45.1	22.4	15.1	20.0	3.3	78.6	25.0	27.9	6.9
	β	5.8	83.1	40.3	29.4	33.3	4.6	117.8	42.6	43.9	11.6
	γ	0.1	1.5	0.8	0.6	0.7	0.1	1.5	0.5	0.6	0.2
	δ	0.1	2.7	0.9	0.9	0.4	0.1	1.4	0.4	0.5	0.1
<i>Erica</i>											
Raíces	HCH total	11.1	338.0	88.7	111.7	33.7	4.3	86.0	22.6	24.2	15.3
	α	1.0	182.0	28.1	57.9	1.8	1.0	31.5	6.6	9.1	4.4
	β	9.1	165.0	58.0	56.1	31.7	3.0	52.4	15.5	15.3	10.2
	γ	0.1	4.8	1.5	1.7	0.7	<l.d.	1.6	0.4	0.5	0.3
	δ	<d.l.	6.2	1.1	2.0	0.2	<l.d.	0.5	0.2	0.1	0.1
Biomasa aérea	HCH total	10.9	503.4	150.9	157.2	82.8	3.1	386.9	70.8	109.9	34.9
	α	2.9	104.0	31.4	33.3	21.6	1.7	106.0	20.1	30.7	8.4
	β	7.8	463.0	114.3	136.3	63.4	1.4	272.0	49.0	76.9	28.2
	γ	0.2	17.7	3.8	5.0	2.2	0.1	5.0	1.0	1.4	0.5
	δ	0.1	4.3	1.3	1.5	0.8	<l.d.	4.0	0.7	1.1	0.3

n=6; ¹ d. s., desviación estándar; ² < l. d. inferior al límite de detección (0.1 mg kg^{-1}).

HCH: suelo vs. fraccionamiento en planta

La Figura 4 muestra la relación entre la concentración de HCH en los tejidos vegetales (raíz, parte aérea) frente a la concentración de HCH en el suelo. La tendencia general es a un ajuste lineal con un coeficiente de correlación generalmente alto, si bien la linealidad parece perderse en el caso de los tejidos aéreos ($r>0.650$; $P<0.05$; ejemplo, β -HCH; Figura 4a).

En el experimento en campo, al representar la concentración de HCH en la raíz frente a la concentración en el suelo circundante, se aprecian dos grupos de muestras (SM vs. CM; para cada especie e isómero), con una correlación particular ($R^2>0.700$; Figura 4b). No obstante, al representar la concentración de HCH en raíces frente a la concentración

de HCH en el suelo rizodisponible (al final del experimento), esta distinción desaparece, ajustándose todas las muestras a una única recta de regresión, independientemente del tratamiento. Los valores de la pendiente del ajuste de estas rectas varían en función de la especie y el isómero: 0.26 y 0.39 para β -HCH; 0.17 y 0.39 para α -HCH. La pendiente se interpreta como un factor de bioconcentración en raíces ($\text{FBC}_{\text{raíces}}$) (Tabla 4). Los valores de corte con el eje Y se pueden interpretar como un valor de fondo o concentración de HCH en la biomasa subterránea cuando la concentración de HCH en el suelo rizodisponible es cero (rango entre 1 y 7 mg kg^{-1} ; Tabla 4).

Al representar la concentración de HCH en la biomasa aérea frente a la concentración en el suelo rizodisponible se aprecia la

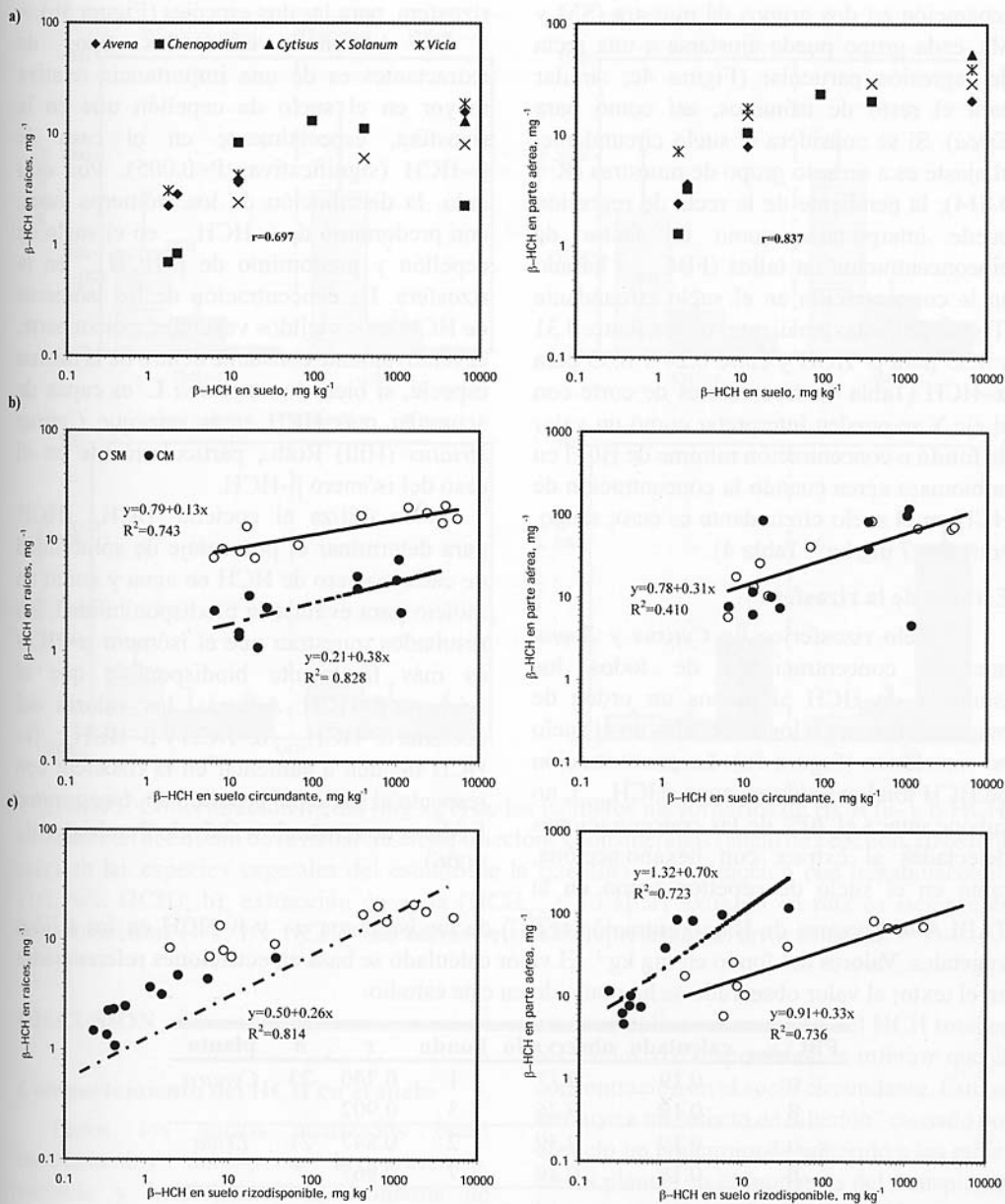


FIGURA 4. Concentración de β -HCH (mg kg^{-1}) en los suelos y tejidos vegetales (raíz, parte aérea) de las diferentes especies consideradas: a) caracterización general de la parcela; b), experimento en campo, suelo circundante, ejemplo: *Cynara*; c), experimento en campo, suelo rizodisponible, ejemplo: *Cynara*. n, variable (5-12); SM, tratamiento Sin Maceta; CM, tratamiento Con Maceta. Las concentraciones se expresan en escala logarítmica (Log_{10}).

separación en dos grupos de muestra (SM y M), cada grupo puede ajustarse a una recta de regresión particular (Figura 4c; similar para el resto de isómeros, así como para *Erica*). Si se considera el suelo circundante, el ajuste es a un solo grupo de muestras ($R^2=0.814$); la pendiente de la recta de regresión puede interpretarse como un factor de bioconcentración en tallos (FBC_{tallos}) basado en la concentración en el suelo circundante (Figura 4b); estas pendientes oscilan entre 0.31 y 0.35 para β -HCH y entre 0.24 y 0.35 para α -HCH (Tabla 4). Los valores de corte con el eje Y se pueden interpretar como un valor de fondo o concentración mínima de HCH en la biomasa aérea cuando la concentración de HCH en el suelo circundante es cero; rango, entre 2 y 7 mg kg⁻¹; Tabla 4).

Estudio de la rizosfera

El suelo rizosférico de *Cytisus* y *Avena* presenta concentraciones de todos los isómeros de HCH al menos un orden de magnitud inferior a los detectados en el suelo no rizosférico (Figura 5a). La concentración de HCH total extraído en agua (HCH_{H_2O}), no supone nunca el 20% de las concentraciones detectadas al extraer con hexano:acetona, tanto en el suelo de cepellón como en la

rizosfera, para las dos especies (Figura 5b).

La diferencia entre los tipos de extractantes es de una importancia relativa mayor en el suelo de cepellón que en la rizosfera, especialmente en el caso de β -HCH (significativa; $P<0.005$). Por otro lado, la distribución de los isómeros varía, con predominio de α -HCH_{H₂O} en el suelo de cepellón y predominio de β -HCH_{H₂O} en la rizosfera. La concentración de los isómeros de HCH en los tejidos vegetales, por su parte, es relativamente constante dentro de la misma especie, si bien *Avena sativa* L. es capaz de acumular más HCH en la raíz que *Cytisus striatus* (Hill) Roth., particularmente en el caso del isómero β -HCH.

Si se utiliza el cociente HCH_{H_2O}/HCH para determinar el porcentaje de solubilidad de cada isómero de HCH en agua y como un indicio para evaluar la biodisponibilidad, los resultados muestran que el isómero α -HCH es más fácilmente biodisponible que el isómero β -HCH. Además, los valores del cociente α -HCH_{H₂O}/ α -HCH y β -HCH_{H₂O}/ β -HCH tienden a aumentar en la rizosfera con respecto al suelo del cepellón en *Avena sativa* L (datos no mostrados, Calvelo Pereira *et al.*, 2006).

TABLA 4. Factores de Biococentración (FBC) de los isómeros α - y β -HCH en los tejidos vegetales. Valores del fondo en mg kg⁻¹. El valor calculado se basa en ecuaciones referenciadas en el texto; el valor observado se ha obtenido en este estudio.

$FBC_{\text{raíces}}$	calculado	observado	Fondo	r	n	planta
α	0.19	0.17	1	0.740	23	<i>Cynara</i>
β	0.18	0.26	3	0.902		
α	0.19	0.39	2	0.847	21	<i>Erica</i>
β	0.18	0.39	7	0.967		

FBC_{tallos}	calculado	observado	Fondo	r	n	planta
α	0.25	0.24	4	0.539	21	<i>Cynara</i>
β	0.25	0.31	6	0.640		
α	0.25	0.35	2	0.775	22	<i>Erica</i>
β	0.25	0.35	7	0.596		

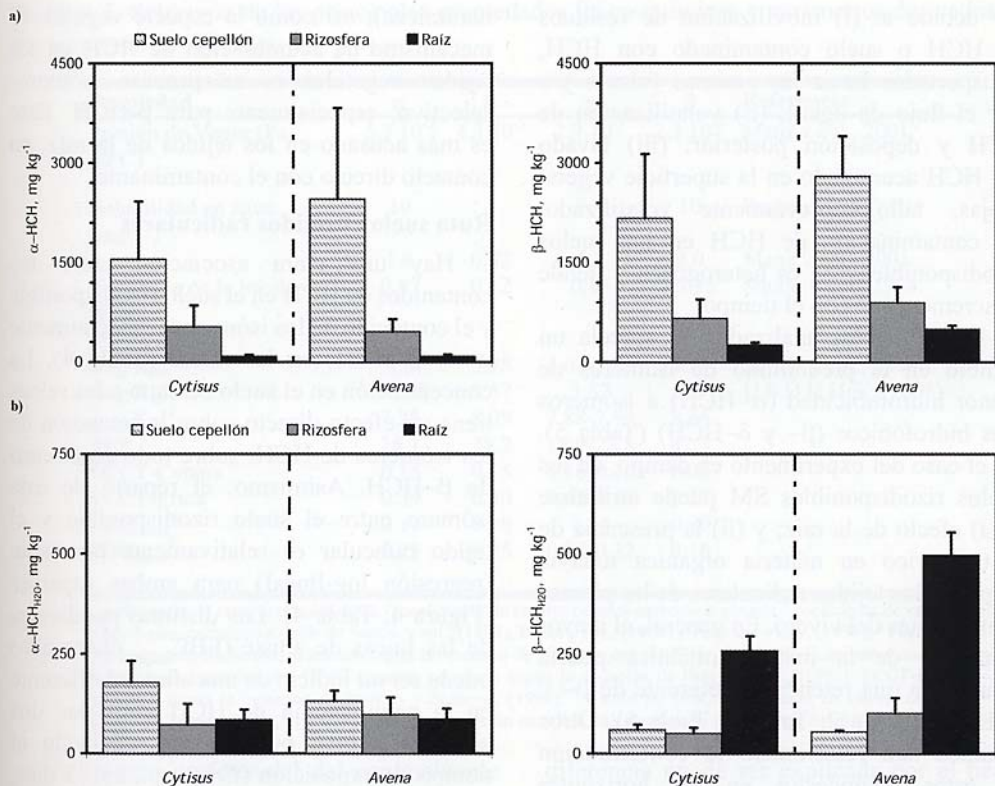


FIGURA 5. Concentración media (mg kg^{-1}) de los isómeros mayoritarios de HCH (a- y b-HCH) extraídos en el estudio de la rizosfera en las fracciones consideradas (suelo de cepellón, rizosfera, raíz) en las especies vegetales del estudio de la rizosfera: a), extracción con hexano:acetona (1:1, v/v, HCH); b), extracción en agua (HCH_{H₂O}). El HCH extraído en raíz es siempre en hexano:acetona (1:1, v/v, HCH). Las barras verticales representan el error estándar.

DISCUSIÓN

Comportamiento del HCH en el suelo

Todos los suelos analizados están contaminados debido a la presencia, variable y heterogénea, de isómeros de HCH, superando el límite permitido por la legislación autonómica (2 mg kg^{-1} de HCH total; Decreto 263/1999¹). En el experimento

en campo, la concentración del HCH total en los suelos rizodisponibles es inferior que la concentración en el suelo circundante. Esto se atribuye a un "efecto de dilución" causado por el suelo no contaminado adherido a las raíces de las plantas en el momento del transplante. El suelo rizodisponible CM también presenta contaminación, a pesar tratarse de suelos limpios al principio del ensayo. Esto puede

1 Decreto 263/1999, do 30 de setembro, polo que se fixa a concentración límite en solos afectados por vertidos de residuos de HCH. Corrección de

erros (29 outubro) Decreto 263/1999, do 30 de setembro, polo que se fixa a concentración límite en solos afectados por vertidos de residuos de HCH.

ser debido a: (i) movilización de residuos de HCH o suelo contaminado con HCH, transportados hacia las macetas (viento y/o por el flujo de agua); (ii) volatilización de HCH y deposición posterior; (iii) lavado del HCH acumulado en la superficie vegetal (hojas, tallo), previamente volatilizado. La contaminación de HCH en los suelos rizodisponibles CM es heterogénea y tiende a incrementarse con el tiempo.

En los suelos analizados se aprecia un cambio en el predominio de isómeros de menor hidrofobicidad (α -HCH) a isómeros más hidrofóbicos (β - y δ -HCH) (Tabla 5). En el caso del experimento en campo, en los suelos rizodisponibles SM puede atribuirse a: (i) efecto de la raíz; y (ii) la presencia de sustrato rico en materia orgánica todavía pegado a los tejidos radiculares de las plantas provenientes del vivero. En general, el mayor contenido de la materia orgánica podría resultar en una retención preferente de β - y δ -HCH (Figura 2; Tabla 3; Tabla 5). Otros estudios han relacionado la concentración de estos compuestos en los horizontes superficiales de los suelos con a la presencia de arcillas (Miglioranza *et al.*, 1999)

Distribución de los isómeros de HCH en el sistema suelo-planta; rutas de acumulación

Acumulación de HCH en la vegetación

Las especies vegetales analizadas son capaces de acumular todos los isómeros principales de HCH en sus tejidos, en concentraciones variables. En general, el HCH se acumula en los tejidos aéreos en mayor cantidad que en las raíces. Hay una estrecha relación entre las concentraciones en los suelos con respecto a las concentraciones en los tejidos vegetales (Figura 4). No obstante, el ajuste no siempre es claramente lineal y los coeficientes de regresión son variables; hay que considerar las diferencias en función del isómero de HCH, el tipo de tejido (y

naturaleza), así como la especie vegetal. El mecanismo de acumulación de HCH en los tejidos vegetales es un proceso isómero-selectivo, especialmente para β -HCH. Esto es más acusado en los tejidos de la raíz, en contacto directo con el contaminante.

Ruta suelo \rightarrow tejidos radiculares

Hay una clara asociación entre los contenidos de HCH en el suelo rizodisponible y el contenido de los isómeros (especialmente α - y β -HCH) en las raíces (Tabla 4). La concentración en el suelo cercano a las raíces tiene un efecto directo sobre la retención de los isómeros de HCH, sobre todo en el caso de β -HCH. Asimismo, el reparto de este isómero entre el suelo rizodisponible y el tejido radicular es relativamente constante (regresión log-lineal) para ambas especies (Figura 4; Tabla 4). Las distintas pendientes de las líneas de ajuste ($FBC_{raíces}$ observado) puede ser un indicio de una afinidad diferente en la acumulación de HCH entre las dos especies o bien puede estar reflejando el tiempo de exposición (*Erica* sp., $t=135$ días, el FCB es constante). En todo caso, los valores observados son mayores que los factores de bioconcentración que pueden calcularse a partir de los datos fisicoquímicos a partir del método, muy utilizado, de Trapp (2002) (Tabla 5); los isómeros de HCH tienen una afinidad por los tejidos de las raíces mayor de la que normalmente se asume.

Los contaminantes orgánicos se acumulan en las raíces vegetales como resultado de: (i) absorción y translocación (Briggs *et al.*, 1982; Burken y Schnoor, 1998), para compuestos poco hidrofóbicos ($\text{Log}K_{ow}$ 0.5 - 3; Schnoor *et al.*, 1995); y (ii) adsorción sobre los tejidos radiculares (Dietz y Schnoor, 2001). Dado que los isómeros de HCH presentan elevados valores del $\text{Log}K_{ow}$ (>3.5 ; Tabla 5), el proceso (i) es muy poco probable. La adsorción sobre la superficie de las raíces (reparto hidrofóbico) es una vía de entrada en las plantas, a través

FBC_{tallos} empírico (método de Travis y Arms, 1988; Tabla 5); esto revela diferencias entre los isómeros de HCH y cada especie vegetal. El valor de fondo calculado, por otro lado, incide en la importancia de la concentración del HCH en el suelo circundante como origen de la contaminación (Tabla 5). Estos datos indican que la ruta suelo → aire → planta es clave para explicar los niveles de HCH detectados en la biomasa aérea. Esta ruta de contaminación puede incluir tanto una deposición a partir de la fase gaseosa como una deposición asociada a partículas (Welsch-Pausch *et al.*, 1995; McLachlan, 1999).

La ruta de adsorción aire → planta ha sido reconocida y estudiada para los isómeros de HCH y otros compuestos orgánicos desde el principio de la década de 1980 (Bacci *et al.*, 1990; Trapp y Matthies, 1995, 1997; Bakker, 2000). El coeficiente de reparto octanol-aire (LogK_{oa} , calculado; Tabla 5) es una herramienta útil en la evaluación del comportamiento de los compuestos orgánicos en los dos medios. Los valores de LogK_{oa} para los isómeros de HCH indican que la afinidad por los compuestos lipídicos (superficie vegetal) seguiría el orden: $\delta > \beta > \gamma > \alpha$, consistente con el hecho de la preponderancia de β -HCH en los tejidos aéreos (Figura 2). La tendencia se confirma al comparar los valores del FBC_{tallos} de los isómeros α - y β -HCH para cada especie vegetal (Tabla 4). Hay que considerar que un único parámetro como el LogK_{oa} no permite explicar el complejo proceso de retención de HCH sobre las superficies vegetales. De acuerdo con trabajos previos, la adsorción tendría lugar entre la superficie de la cutícula vegetal o bien en los estomas (absorción), si bien el papel que desempeñan los estomas es muy debatido (Barber *et al.*, 2002).

El efecto rizosfera

Las dos plantas analizadas en este estudio muestran una tendencia a la reducción

del nivel de los cuatro isómeros de HCH en el suelo de la rizosfera (Figura 5a,b). La disipación de los contaminantes en la rizosfera ha sido descrita para el caso de otros insecticidas (Hsu y Bartha, 1979), tricloroetileno (Walton y Anderson, 1990), compuestos policíclicos aromáticos (Reilly *et al.*, 1996) e hidrocarburos (Chaineau *et al.*, 2000). Este proceso puede ser el resultado de varios factores: (i) secuestro por reparto preferencial hacia los tejidos lipofílicos y/o absorción por las raíces, tal y como se ha descrito; (ii) exudación radicular de enzimas (deshalogenasas, por ejemplo), capaces de catalizar la reacción de retirada de las moléculas de cloro (Wolfe y Hoehamer, 2003); (iii) aumento de la degradación en relación con el efecto rizosfera (Miya y Firestone, 2001). Recientemente, Kidd *et al.*, (2008), han encontrado evidencias de dechloración de los isómeros de HCH (especialmente α -HCH) debido a un proceso de fitoestimulación de la microbiota de la rizosfera en suelos contaminados con HCH.

Por otro lado, el cociente $\text{HCH}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{HCH}$ para los isómeros mayoritarios refleja la influencia de las raíces en la distribución y biodisponibilidad del HCH. En este sentido, es posible que la exudación de compuestos con características surfactantes a través de las raíces (Anderson *et al.*, 1993; Alexander, 2000) se pueda asociar con este proceso. De hecho, Nisius (1988) ha detectado moléculas biosurfactantes como la saponina en *Avena sp.*

Por último, el HCH podría verse afectado por procesos en los suelos, tales como la formación de residuos enlazados, una vía por la cual estos compuestos se incorporarían al humus (Mordaunt *et al.*, 2005). Asimismo, la adsorción específica podría ocurrir en la parte externa de los tejidos vegetales, a través de una transformación de tipo química del compuesto original que resultaría en una unión irreversible de los metabolitos en la

superficie de los tejidos vegetales (Bhadra *et al.*, 1999; Sandermann, 2004). Estas forman no serían extraíbles con las técnicas analíticas utilizadas en este estudio.

CONCLUSIONES

Las plantas que son capaces de crecer en zonas contaminadas con HCH acumulan, principalmente, α -, β -, γ - y δ -HCH, en sus tejidos, actuando como un sumidero de pesticidas. La bioacumulación depende de la concentración inicial, las propiedades físico-químicas (hidrofobicidad, volatilidad) y el tipo de especie y tejido vegetal. Existe una preferencia por la retención de β -HCH, cuyo reparto hidrofóbico es más importante en la parte aérea ($\text{HCH}_{\text{tallos}}/\text{HCH}_{\text{raíz}} > 1$). La volatilización del HCH a partir de un suelo con gran contaminación y la posterior deposición del compuesto sobre la biomasa aérea de las plantas es probablemente el principal mecanismo que explica la presencia y comportamiento de los isómeros de HCH en tallos y hojas; la ruta partícula \rightarrow planta no puede ser descartada. En todo caso, ambas rutas son independientes de la vía de acumulación suelo \rightarrow raíz.

El estudio del efecto rizosfera indica que la especie vegetal tiene influencia en la solubilidad acuosa de los distintos isómeros de HCH, modificando la biodisponibilidad. Otros factores (degradación mediada por los microorganismos, lixiviado, volatilización preferente) podrían contribuir a dichas diferencias. Para discernir la importancia de los diversos procesos son necesarios estudios adicionales centrados en los mecanismos bióticos y abióticos que influyen en el descenso de la concentración de HCH en los suelos de la rizosfera.

Los resultados de este estudio sugieren que las plantas pueden ser utilizadas para la atenuación de la contaminación de los horizontes superficiales de los suelos afectados por la presencia de HCH. En este

sentido, las plantas actuarían como un "filtro verde", reteniendo de un modo eficaz el contaminante previamente volatilizado hacia la atmósfera y favoreciendo la disipación de la contaminación en la zona de raíces. El uso de plantas es un método eficaz y ecológico de descontaminar los suelos mediante técnicas de fitoextracción, especialmente en lugares de clima húmedo y templado, dado que el mantenimiento y costes asociados con estas técnicas son relativamente bajos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a Carmen Pérez Llaguno la inestimable ayuda en el Laboratorio y labores de muestreo. El personal del Departamento de Química Analítica, Universidade de A Coruña ha sido fundamental para el análisis de los isómeros de HCH en los tejidos vegetales. Este estudio ha sido financiado por la Xunta de Galicia (Consellería de Medio Ambiente), el Ministerio de Ciencia y Tecnología del Gobierno de España (Proyecto: REN2002-04507-C02-01), así como por la Diputación de A Coruña.

BIBLIOGRAFÍA

- Alexander, M. (2000): Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science and Technology* 34, 4259-4265.
- Anderson, T. A., Guthrie, E. A., Walton, B. T. (1993): Bioremediation in the rhizosphere. *Environmental Science and Technology* 27, 2630-2636.
- Bacci, E., Calamari, D., Gaggi, C., Vighi, M. (1990): Bioconcentration of organic chemical vapors in plant leaves: experimental measurements and correlation. *Environmental Science and Technology* 24, 885-889.
- Bakker, M. I. (2000): Atmospheric deposition

- of semivolatile organic compounds to plants. Tesis, Universidad de Utrecht, Utrecht, Holanda.
- Barber, J. L., Kurt, P. B., Thomas, G. O., Kerstiens, G., Jones, K. C. (2002): Investigation into the importance of the stomatal pathway in the exchange of PCBs between air and plants. *Environmental Science and Technology* 36, 4282-4287.
- Bhadra, R., Wayment, D. G., Hughes, J. B., Shanks, J. V. (1999): Confirmation of conjugation processes during TNT metabolism by axenic plant roots. *Environmental Science and Technology* 33, 446-452.
- Briggs, G. G., Bromilow, R. H., Evans, A. A. (1982): Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionized chemicals by barley. *Pesticide Science* 14, 495-504.
- Burken, J. G. (2003): Uptake and metabolism of organic compounds. En: *Phytoremediation. Transformation and control of contaminants.*, S. C. McCutcheon and J. L. Schnoor (Ed). John Wiley & Sons, 59-84.
- Burken, J. G. y Schnoor, J. L. (1998): Predictive relationships for uptake of organic contaminants by hybrid poplar trees. *Environmental Science and Technology* 32, 3379-3385.
- Calvelo Pereira, R. (2008): Estudio del comportamiento del hexaclorociclohexano en el sistema suelo-planta para su aplicación en técnicas de fitocorrección. Tesis, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.
- Calvelo Pereira, R., Camps-Arbestain, M., Rodríguez Garrido, B., Macías, F., Monterroso, C. (2006): Behaviour of α -, β -, γ -, and δ -hexachlorocyclohexane in the soil-plant system of a contaminated site. *Environmental Pollution* 144, 210-217.
- Calvelo Pereira, R., Monterroso, C., Macías, F., Camps-Arbestain, M. (2008): Distribution pathways of hexachlorocyclohexane isomers in a soil-plant-air system. A case study with *Cynara scolymus* L. and *Erica* sp. plants grown in a contaminated site. *Environmental Pollution* 155, 350-358.
- Camps Arbestain, M., Barreal, M. E., Mourenza, C., Álvarez, E., Kidd, P., Macías, F. (2003): Rhizosphere chemistry in acid forest soils that differ in their degree of Al-saturation of organic matter. *Soil Science* 168, 267-279.
- Chaîneau, C. H., Morel, J. L., Oudot, J. (2000): Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize. *Journal of Environmental Quality* 29, 569-578.
- Chung, J.-B. y Zasoski, R. J. (1994): Ammonium-potassium and ammonium-calcium exchange equilibria in bulk and rhizosphere soil. *Soil Science Society of America Journal* 58, 1368-1375.
- Crespo González, N., Pan-Montojo González, F., Rega Piñeiro, J., Casas, J. L. (2001): HCH-polluted soils in highly contaminated areas in "O Porriño" (Galicia, Northwest Spain). En: *6th International HCH and Pesticides Forum Book*, J. Vijgen, S. Pruszyński, S. Sobiecki, W. Silwinski (Ed). Plant Protection Institute, Poznan, 175-180.
- Davis, L. C., Castro-Díaz, S., Zhang, Q., Erickson, L. E. (2002): Benefits of vegetation for soils with organic contaminants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21, 457-491.
- Dietz, A. C. y Schnoor, J. L. (2001): Advances in phytoremediation. *Environmental Health Perspectives* 109, 163-168.
- Eptisa (1999): Informe-Resumen de los trabajos realizados con relación a la investigación de detalle de la contaminación

- por HCH en el entorno del Polígono de Torneiros-O Porriño-(Pontevedra). Informe Técnico, 46 p.
- Fabre, B., Roth, E., Heintz, V. (2005): Les isomeres de l'hexachlorocyclohexane. UHA-ADEME, Mulhouse, Francia, 126 p.
- Harner, T., Wideman, J. L., Jantunen, L. M. M., Bidleman, T. F., Parkhurst, W. J. (1999): Residues of organochlorine pesticides in Alabama soils. *Environmental Pollution* 106, 323-332.
- Hernández, L. M., Fernández, M. A., González, M. J. (1991): Lindane pollution near an industrial source in Northeast Spain. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 46, 9-13.
- Horstmann, M. y McLachlan, M. S. (1996): Evidence of a novel mechanism of semivolatile organic compound deposition in coniferous forests. *Environmental Science and Technology* 30, 1794-1796.
- Hsu, T. S. y Bartha, R. (1979): Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 36-41.
- Kidd, P., Prieto-Fernández, A., Monterroso, C., Acea, M. (2008): Rhizosphere microbial community and hexachlorocyclohexane degradative potential in contrasting plant species. *Plant and Soil* 302, 233-247.
- Li, Y. F. (1999): Global technical hexachlorocyclohexane usage and its contamination consequences in the environment: from 1948 to 1997. *The Science of The Total Environment* 232, 121-158.
- Manz, M., Wenzel, K. D., Dietze, U., Schuurmann, G. (2001): Persistent organic pollutants in agricultural soils of central Germany. *The Science of The Total Environment* 277, 187-198.
- Martinez Cortizas, A. y Pérez Alberti, A. (1999): Atlas Climático de Galicia. 207 p.
- Matolcsy, G., Nádasy, M., Andriská, V. (1988): Pesticide chemistry. Elsevier, Amsterdam, 808 p.
- McLachlan, M. S. (1999): Framework for the interpretation of measurements of SOCs in plants. *Environmental Science and Technology* 33, 1799-1804.
- Metcalfe, R. L. (1955): Benzene Hexachloride. En: *Organic insecticides: their chemistry and mode of action*, (Ed). Interscience Publishers New York, 213-231.
- Miglioranza, K. S. B., Aizpun de Moreno, J. E., Moreno, V. J., Osterrieth, M. L., Escalante, A. H. (1999): Fate of organochlorine pesticides in soils and terrestrial biota of "Los Padres" pond watershed, Argentina. *Environmental Pollution* 105, 91-99.
- Miya, R. K. y Firestone, M. K. (2001): Enhanced phenanthrene biodegradation in soil by slender oat root exudates and root debris. *Journal of Environmental Quality* 30, 1911-1918.
- Mordaunt, C. J., Gevao, B., Jones, K. C., Semple, K. T. (2005): Formation of non-extractable pesticide residues: observations on compound differences, measurement and regulatory issues. *Environmental Pollution* 133, 25-34.
- Muir, D. C. G., Segstro, M. D., Welbourn, P. M., Toom, D., Eisenreich, S. J., Macdonald, C. R., Whelpdale, D. M. (1993): Patterns of accumulation of airborne organochlorine contaminants in lichens from the Upper Great Lakes Region of Ontario. *Environmental Science and Technology* 27, 1201-1210.
- Nisius, A. (1988): The stromacentre in *Avena* plastids: an aggregation of β -glucosidase responsible for the activation of oat-leaf saponins. *Planta* 173, 474-481.

- Paterson, S., Mackay, D., Bacci, E., Calamari, D. (1991): Correlation of the equilibrium and kinetics of leaf-air exchange of hydrophobic organic chemicals. *Environmental Science and Technology* 25, 866-871.
- Pilon-Smits, E. (2005): Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology* 56, 15-39.
- Pinton, R., Varanini, Z., Nannipieri, P. (2001): The Rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. Marcel Dekker, Inc., New York, 424 p.
- Pivetz, B. E. (2001): Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites. EPA-Groundwater Issue, 36 p.
- Prager, J. C. (1995): Environmental Contaminant Reference Databook Volume 1. Van Nostrand Reinhold, New York, 1264 p.
- Reilley, K. A., Banks, M. K., Schwab, A. P. (1996): Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Journal of Environmental Quality* 25, 212-219.
- Riederer, M. (2005): Uptake and transport of xenobiotics. En: *Plant Toxicology*, B. Hock and E. F. Elstner (Ed). Marcel Dekker, 131-150.
- Sandermann, H. J. (2004): Bound and unextractable pesticidal plant residues: chemical characterization and consumer exposure. *Pest Management Science* 60, 613-623.
- Schnoor, J. L., Licht, L. A., McCutcheon, S. C., Wolfe, N. L., Carreira, L. H. (1995): Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environmental Science and Technology* 29, 318A-323A.
- Schreiber, L. y Schönherr, J. (1992): Uptake of organic chemicals in conifer needles: surface adsorption and permeability of cuticles. *Environmental Science and Technology* 26, 153-159.
- Schwarz, O. J. y Jones, L. W. (1997): Bioaccumulation of xenobiotic organic chemicals by terrestrial plants. En: *Plants for Environmental Studies*, W. Wang, J. W. Gorsuch, J. S. Hughes (Ed). CRC Press, 417-449.
- Simonich, S. L. y Hites, R. A. (1994): Importance of vegetation in removing polycyclic aromatic hydrocarbons from the atmosphere. *Nature* 370, 49-51.
- Simonich, S. L. y Hites, R. A. (1995): Organic pollutant accumulation in vegetation. *Environmental Science and Technology* 29, 2905-2914.
- Suntio, L. R., Shiu, W. Y., Mackay, D., Seiber, J. N., Glotfelty, D. (1988): Critical review of Henry's law constants for pesticides. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 103, 1-59.
- Trapp, S. (2002): Dynamic root uptake model for neutral lipophilic organics. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21, 203-206.
- Trapp, S. y Matthies, M. (1995): Generic one-compartment model for uptake of organic chemicals by foliar vegetation. *Environmental Science and Technology* 29, 2333-2338.
- Trapp, S. y Matthies, M. (1997): Modeling volatilization of PCDD/F from soil and uptake into vegetation. *Environmental Science and Technology* 31, 71-74.
- Travis, C. C. y Arms, A. D. (1988): Bioconcentration of organics in beef, milk, and vegetation. *Environmental Science and Technology* 22, 271-274.
- Turnbull, A. (1996): Chlorinated Pesticides. En: *Issues in Environmental Science and Technology. Chlorinated Organic Micropollutants*, R. E. Hester (Ed). RSC Publishing, 113-135.

- U.S.D.H.H.S (2005): Toxicological profile for Alpha-, Beta-, Gamma-, and Delta-Hexachlorocyclohexane. Atlanta, Georgia, 354 p.
- USC (2003): Evaluación y bioremediación de suelos contaminados con isómeros de HCH en el Polígono de Torneiros, Porriño (Pontevedra). Santiago de Compostela, 176 p.
- van Pul, W. A. J., Bidleman, T. F., Brorström-Lundén, E., Builtjes, P. J. H., Dutchak, S., Duyzer, J. H., Gryning, S.-E., Jones, K. C., van Dijk, H. F. G., van Jaarsveld, J. A. (1999): Atmospheric transport and deposition of pesticides: an assessment of current knowledge. *Water, Air, & Soil Pollution* 115, 245-256.
- Vijgen, J. (2006): The legacy of Lindane HCH isomer production. IHPA, www.ihpa.info/libraryaccess.php, 81 p.
- Walker, K., Vallero, D. A., Lewis, R. G. (1999): Factors influencing the distribution of lindane and other hexachlorocyclohexanes in the environment. *Environmental Science and Technology* 33, 4373-4378.
- Walton, B. T. y Anderson, T. A. (1990): Microbial degradation of trichloroethylene in the rhizosphere: potential application to biological remediation of waste sites. *Applied and Environmental Microbiology* 56, 1012-1016.
- Wang, W., Gorsuch, J. W., Hughes, J. S. (1997): Plants for Environmental Studies. CRC Press, Boca Raton, 563 p.
- Wania, F. y Mackay, D. (1995): A global distribution model for persistent organic chemicals. *Science of The Total Environment* 160-161, 211-232.
- Welsch-Pausch, K., McLachlan, M. S., Umlauf, G. (1995): Determination of the principal pathways of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to *Lolium multiflorum* (Welsh Ray Grass). *Environmental Science and Technology* 29, 1090-1098.
- Willett, K. L., Ulrich, E. M., Hites, R. A. (1998): Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers. *Environmental Science and Technology* 32, 2197-2207.
- Wolfe, N. L. y Hoehamer, C. F. (2003): Enzymes used by plants and microorganisms to detoxify organic compounds. En: *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants* S. C. McCutcheon and J. L. Schnoor (Ed). Wiley-Interscience, 159-187.
- WRB (2006): World Reference Base for Soil Resources. FAO, Rome, 128 p.