

POTENCIAL DE FITOEXTRACCIÓN DE PLOMO DE ESPECIES FORMADORAS DE CÉSPEDES

MARÍA J. BARROS; ALICIA R.F. DE IORIO; ALEJANDRA N. GARCÍA y ALICIA E. RENDINA¹

Recibido: 06/10/04

Aceptado: 20/04/05

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de fitoextracción de plantas gramíneas cultivadas sobre suelos con altas concentraciones de plomo, *Cynodon dactylon* x *C. transvaalensis* cv. *Tifway*, *Stenotaphrum secundatum* (Walt.) Kunze, y *Pennisetum clandestinum* Hochst ex Chiov, cada una cultivada en parcelas, con dos niveles de contaminación (con y sin agregado de metal contaminante al suelo utilizando solución de $Pb(NO_3)_2$). No se detectaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre las concentraciones de plomo en el suelo determinadas entre 0 y 3 cm de profundidad, al iniciar y al terminar el ensayo. Extracciones químicas secuenciales mostraron resultados coincidentes con los obtenidos a través de las extracciones simples con el agente quelante DTPA. Las concentraciones de Pb en la biomasa aérea en las parcelas contaminadas artificialmente, fueron de tan baja magnitud que las plantas estudiadas pudieron considerarse excluidoras del metal pesado, aunque el potencial de fitoextracción para kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) fue alto.

Palabras clave. Metal pesado, contaminación del suelo, especie excluidora de metales, potencial de fitoextracción.

LEAD PHYTOEXTRACTION POTENTIAL OF TURFGRASS SPECIES

SUMMARY

The aim of this work was to evaluate the phytoextraction potential of graminous plants grown on soils with high concentrations of lead, *Cynodon dactylon* x *C. transvaalensis* cv. *Tifway*, *Stenotaphrum secundatum* (Walt.) Kunze, and *Pennisetum clandestinum* Hochst ex Chiov, each one in six plots, with two levels of contamination (with and without contamination with $Pb(NO_3)_2$ solution). Significant differences ($p>0,05$) could not be found between lead concentrations in the soil from 0 to 3 cm deep at the beginning and at the end of the trial. Sequential chemical extractions showed similar results to simple extractions performed with DTPA, a chelating agent. Lead concentrations in the aerial biomass in the artificially contaminated plots were so low that the plants commercialized as turf-grass could be considered as lead excluders, even though the lead phytoextraction potential was high for kikuyu (*Pennisetum clandestinum*).

Key words. Heavy metal, soil contamination, metal-excluder species, phytoextraction potential.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de los suelos por metales se produce generalmente como resultado de actividades antropogénicas (Bohn *et al.*, 1993) industriales, mineras, urbanas, debido al uso de combusti-

bles, fertilizantes y pesticidas (Adriano, 1992; Alloway, 1995; Meeussen *et al.*, 1994). El grupo de contaminantes inorgánicos más importante en los suelos es el de los metales pesados, entre los que se encuentra el plomo (Pb). Los Niveles Guía de

¹Cátedra de Química Analítica. Depto. de Recursos Naturales y Ambiente Facultad de Agronomía UBA. Avda. San Martín 4453 Buenos Aires.

Calidad de Suelos constan en el Decreto 831/93 reglamentario de la Ley 24.051, *Residuos Peligrosos*, República Argentina. La absorción del Pb^{2+} por las raíces de las plantas depende de características de la especie y de la disponibilidad del metal, que está condicionada por su distribución entre las fracciones del suelo y por propiedades como el pH y la capacidad de intercambio catiónico (Tlustoš *et al.* 2001). La absorción del plomo se produce desde la solución del suelo, por consiguiente el metal inmediatamente biodisponible es el que se encuentra en la fase soluble o que puede ser fácilmente solubilizado por exudados de las raíces u otros componentes del suelo. La tendencia del Pb a formar precipitados insolubles con diversos aniones (fosfatos, carbonatos, hidroxí-óxidos) y complejos reduce su biodisponibilidad (McBride, 1994), que puede incrementarse a pH por debajo de 5,5. La translocación del ion divalente desde la raíz hacia los tejidos aéreos es limitada. El catión que ha sido transportado dentro de las células de las raíces, es precipitado o complejoado, y para el transporte en la planta a larga distancia, desde las raíces hacia los tejidos aéreos, es necesario que forme complejos con ácidos orgánicos dentro de la célula (Raskin y Ensley, 2000). Por consiguiente, es esperable observar síntomas de toxicidad por plomo solamente si la concentración en el suelo es elevada (de 100 a 1.000 $mg\ kg^{-1}$). Los efectos tóxicos del plomo tienen relación principalmente con su capacidad para reaccionar con grupos funcionales como sulfhidrilos, carboxilos y aminos lo que lleva a una disminución de la actividad de diversas enzimas importantes para el funcionamiento de la célula (Peng *et al.*, 2005). Los valores normales en tejidos de vegetales que lo absorben como ion Pb^{2+} se encuentran entre 0,2 y 20 $\mu g\ g^{-1}$ (Alloway, 1995). En especies gramíneas (*Poáceas*) Dushenkov *et al.* (1995) informaron diversas capacidades de acumulación del metal pesado en las raíces (145 $mg\ g^{-1}$ de materia seca en *Agrostis* sp., 135 $mg\ g^{-1}$ en *Lolium* sp., 90 $mg\ g^{-1}$ en *Cynodon* sp., 75 $mg\ g^{-1}$ en *Zea* sp.). Huang y Cunningham (1996) señalaron acumulación de plomo en tejidos aéreos de gramíneas como maíz (*Zea mays*) en condiciones de pH ácido y bajo contenido de fósforo, y Zhen-Guo *et al.* (2002) en la biomasa aérea de plantas de trigo (*Triticum aestivum*) que alcanzaron 80,4 $mg\ Pb\ kg^{-1}$ de materia seca al crecer sobre un suelo contaminado con 10.600 $mg\ kg^{-1}$ de Pb. El potencial de fitoextracción de una especie puede calcularse como la masa total del metal pesado ex-

traída por hectárea ($kg\ ha^{-1}$) en un solo ciclo de cultivo, teniendo en cuenta el rendimiento de materia seca producido (Kos *et al.*, 2003). Las gramíneas (*Poáceas*) constituyen una familia a la que pertenece la mayoría de las especies vegetales empleadas en la formación de céspedes, que requieren de varios cortes al año y por consiguiente evidencian una considerable productividad anual.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial de fitoextracción de plantas gramíneas comercializadas para césped cultivadas sobre suelos con altas concentraciones de plomo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ensayo. Se trabajó sobre un suelo localizado a 5 m de una calle de activa circulación de automotores dentro del predio de la Facultad de Agronomía (UBA). Se removió el suelo de los primeros 40 cm de profundidad del área definida para el ensayo (4 m x 2,5 m), se homogeneizó y se recubrió el fondo con material plástico de 100 μm sobre el que se reubicó el suelo. Se delimitaron parcelas de 50 cm x 50 cm en las que se cultivaron bermuda híbrida (*Cynodon dactylon* x *C. transvaalensis* cv. *Tifway*), gramillón (*Stenotaphrum secundatum* (Walt.) Kunze), y kikuyo (*Pennisetum clandestinum* Hochst ex Chiov), con dos niveles de contaminación (con y sin agregado de metal contaminante al suelo). Las parcelas destinadas a la implantación de cada especie con agregado de metal se trataron con soluciones de $Pb(NO_3)_2$ 90 mM para lograr 1.750 $\mu g\ g^{-1}$ del metal en el suelo, y durante siete meses se mantuvo la humedad mediante riego, con el fin de permitir una redistribución del metal entre las distintas fracciones del suelo. Las parcelas sin agregado de plomo fueron consideradas *control*. Cada combinación de especie y nivel de contaminación correspondió a un tratamiento y tres parcelas por tratamiento constituyeron las repeticiones. Se asignaron al azar los tratamientos a las parcelas numeradas de 1 a 18. El diseño fue completamente aleatorizado.

Propiedades del suelo. Las muestras de suelo se secaron al aire y se tamizaron por malla de 2 mm. Al comenzar el ensayo se realizaron determinaciones de pH del suelo (1:2,5), conductividad eléctrica, carbono orgánico, fósforo disponible, cationes extraíbles con acetato de amonio y textura. Al comenzar y al finalizar el ensayo se determinaron por espectrometría de absorción atómica (Perkin Elmer 1100 B) las concentraciones de plomo en las soluciones de los extractos obtenidos por digestión ácida (HNO_3 , $HClO_4$, HF).

Extracciones químicas simples y secuenciales. Se realizaron extracciones químicas secuenciales de plomo aplicando el método de Tessier *et al.* (1979) que define operacionalmente las fracciones que en este trabajo se señalaron como: 1°) Pb libre y en complejos en la solución del suelo y adsorbido sobre los constituyentes inorgánicos en sitios de intercambio; 2°) Pb unido a carbonatos; 3°) Pb unido a óxidos e hidróxidos; 4°) Pb unido a la materia orgánica; 5°) Pb dentro de la estructura de los minerales primarios y secundarios. Se realizaron extracciones con DTPA, (ácido dietilentriaminopentaacético, agente quelante) (Lindsay y Norvell, 1978; Rendina *et al.*, 2002) al iniciar y al terminar el ensayo.

Análisis del vegetal. Al finalizar el ensayo se extrajeron plantas de cada parcela. Se lavaron las raíces con agua desionizada y con solución de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM (Salt *et al.*, 1997). Se separó la biomasa aérea de la subterránea. El material vegetal se secó en estufa a 70 °C, se trató con mezcla de $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ (5:1 v/v) y se llevó a volumen para el análisis.

Análisis de los resultados. Los datos se procesaron estadísticamente, mediante Análisis de la Varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para confrontación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro N° 1 se presentan las características del suelo en estudio, que resultaron adecuadas para el crecimiento del césped.

Los resultados obtenidos mostraron que no existían diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las concentraciones de plomo en el suelo (0-3 cm de profundidad) al iniciar y al terminar el ensayo

CUADRO N° 1. Características edáficas del ambiente bajo estudio.

pH (1:2,5)	5,9 ± 0,2
Conductividad eléctrica [$\mu\text{S cm}^{-1}$]	322 ± 53
Cationes extraíbles con NH_4Ac 1 M [$\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$]	15,2 ± 3,1
C orgánico [%]	2,3 ± 0,3
Arena [%]	13,22
Limo [%]	64,28
Arcilla [%]	22,50
P disp. [$\mu\text{g g}^{-1}$]	28,8 ± 4,4
Pb total [$\mu\text{g g}^{-1}$]	98,6 ± 8,3

(Cuadro N° 2), hecho que indicaba que ninguna de las tres especies cultivadas extrajo plomo en cantidad suficiente como para modificar significativamente la concentración del metal en el suelo.

Para evaluar la concentración de plomo disponible para ser absorbido por las raíces de los céspedes se analizaron los suelos de las parcelas aplicando extracciones químicas secuenciales (Cuadro N° 3) que mostraron resultados coincidentes con los obtenidos a través de extracciones simples con el agente quelante DTPA (Cuadro N° 4). En las parcelas testigo se extrajo con DTPA una proporción equivalente del plomo total a la separada en la primera fracción de las extracciones secuenciales. En las parcelas contaminadas artificialmente el Pb^{2+} extraído con DTPA al iniciar y al finalizar el ensayo fue el 77% del total en el suelo, lo que equivalía al porcentaje que acumulaban las tres primeras frac-

CUADRO N° 2. Concentración de Pb entre 0 y 3 cm de profundidad en el suelo.

		Suelo no contaminado		Suelo contaminado	
Pb total al iniciar el ensayo	[$\mu\text{g g}^{-1}$]	98,8 ± 7,9	a	1.798 ± 148	a
Pb total al finalizar el ensayo	[$\mu\text{g g}^{-1}$]	99,3 ± 6,8	a	1.754 ± 155	a

-En cada columna letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

CUADRO N° 3. Porcentaje (%) del Pb total en las fracciones de suelo entre 0 y 3 cm al iniciar el ensayo.

Fraciones del suelo	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a
Parcelas no contaminadas	23,1 ± 2,6 ab	8,2 ± 1,3 c	26,2 ± 3,3 a	21,2 ± 1,9 b	21,2 ± 1,9 b
Parcelas contaminadas	34,0 ± 3,9 a	10,7 ± 1,1 c	35,7 ± 3,7 a	15,6 ± 3,9 b	4,0 ± 0,8 d

-En cada fila letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

ciones, por consiguiente el metal en el suelo se encontraba en formas potencialmente disponibles para la absorción por las raíces de la planta en proporción significativamente mayor que en las parcelas testigo. El plomo se presenta en el suelo en distintas formas geoquímicas que están en equilibrio dinámico (Chaney, 1988) relacionado con la biodisponibilidad del metal. En el suelo de este ensayo se verificó que la mayor parte se encontraba en formas insolubles. El 23% del plomo total en las parcelas no contaminadas y el 34% en las contaminadas artificialmente se hallaba en la 1ª fracción, *soluble e intercambiable*, inmediatamente disponible para ser absorbido por las raíces, pero el desplazamiento de los equilibrios entre la solución del suelo y las fases geoquímicas de las parcelas contaminadas permitía que una proporción mayor que la extraída en esa fracción se encontrara biodisponible.

No se observaron síntomas de toxicidad en las plantas cultivadas de bermuda híbrida, (*Cynodon dactylon* x *C. transvaalensis* cv. *Tifway*), gramillón, (*Stenotaphrum secundatum* (Walt.) Kunze) o kikuyo

(*Pennisetum clandestinum* Hochst ex Chiov). Se produjo una acumulación diferencial del Pb en la biomasa aérea de las tres especies de gramíneas analizadas que crecieron sobre suelos con altos niveles del metal (Cuadro N° 5). El kikuyo (*Pennisetum* sp.) translocó plomo a los tejidos aéreos de la planta en mayor proporción que las otras especies. Las concentraciones en la biomasa aérea en las parcelas contaminadas artificialmente, 0,001% en la bermuda híbrida (*Cynodon* sp.), 0,002% en gramillón (*Stenotaphrum* sp.) y 0,003% en kikuyo (*Pennisetum* sp.) estuvieron muy alejadas del valor 0,1% aceptado para establecer que una planta es hiperacumuladora de plomo (Raskin y Ensley, 2000), y fueron de tan baja magnitud que pudieron considerarse excluidoras del metal pesado. Al evaluar la capacidad de fitoextracción de las especies estudiadas, el potencial de fitoextracción calculado (Cuadro N° 5) fue de 0,065 kg de Pb/ha año en las plantas cultivadas de bermuda híbrida y 0,044 kg de Pb/ha año para las plantas de gramillón, valores inferiores a los informados para especies del género *Brassica* caracterizadas como

CUADRO N° 4. Pb extraído con DTPA, agente quelante simple.

	Suelo no contaminado		Suelo contaminado	
	[$\mu\text{g g}^{-1}$ suelo]		[$\mu\text{g g}^{-1}$ suelo]	
Pb extraído al iniciar el ensayo	25 ± 2,4	a	1.316 ± 128	a
Pb extraído al finalizar el ensayo	25 ± 2,3	a	1.350 ± 130	a

-En cada columna letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

CUADRO N° 5. Concentración de plomo en los tejidos aéreos de *Cynodon* sp, *Stenotaphrum* sp y *Pennisetum* sp. Potencial de fitoextracción de las plantas.

Especie	Suelo no contaminado		Suelo contaminado	
	Pb en tejidos aéreos [$\mu\text{g g}^{-1}$]	Potencial de fitoextracción [kg Pb ha ⁻¹]	Pb en tejidos aéreos [$\mu\text{g g}^{-1}$]	Potencial de fitoextracción [kg Pb ha ⁻¹]
<i>Cynodon</i> sp	8 ± 0,8 aB	0,040	13 ± 1,5 cA	0,065
<i>Stenotaphrum</i> sp	10 ± 1,2 aB	0,020	22 ± 2,6 bA	0,044
<i>Pennisetum</i> sp	10 ± 1,5 aB	0,045	29 ± 3,1 aA	0,131

-En cada columna letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

-En cada fila letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

acumuladoras de metales pesados en su biomasa aérea (Raskin y Ensley, 2000; Blaylock *et al.*, 1997). Kos *et al.* (2003) calcularon un potencial de fitoextracción de 0,15 kg de Pb/ha para *Brassica napus* var. *Napus* y de 0,20 kg de Pb/ha para *Brassicca rapa* var. *Pekinensis*. Las plantas de kikuyo en cambio, debido a un alto rendimiento en materia seca y con 0,131 kg de Pb extraído por hectárea y por año tuvieron un potencial de fitoextracción cercano al que presentan plantas acumuladoras.

La concentración de plomo en la biomasa subterránea de *Cynodon* sp, según se observa en el Cuadro N° 6, aún en las parcelas testigo, era significativamente mayor que en la biomasa aérea.

Las especies estudiadas respondieron de distinta manera a la contaminación del suelo con plomo. En las plantas de bermuda híbrida (*Cynodon* sp.) que crecieron tanto sobre el suelo contaminado como en las parcelas control, la concentración de Pb fue mayor en las raíces que en los tejidos aéreos. Se han propuesto diversos mecanismos para explicar la inmovilización que impide la translocación del metal desde las raíces de las plantas, como la unión a los COO⁻ en las paredes celulares o la formación de complejos y retención del metal en estructuras celulares como las vacuolas (Lasat *et al.*, 1998). En las plantas de gramillón (*Stenotaphrum* sp.) de las parcelas contaminadas artificialmente la concentración de Pb en la biomasa aérea resultó ser significativamente mayor ($p < 0,05$) que en la subterránea, pero la concentración de Pb en las raíces fue significativamente menor ($p < 0,05$) que en las otras dos especies, indicando que la planta controlaba la absorción de plomo, pero el metal absorbido era

translocado a los tejidos aéreos. Fue notable observar además, que no hubo diferencias significativas entre las concentraciones de plomo en la biomasa subterránea de gramillón (*Stenotaphrum* sp.) de las parcelas no contaminadas y contaminadas artificialmente (Cuadro N° 6). Existen trabajos que indican que la absorción de plomo a lo largo de las raíces varía significativamente, y es máxima cerca del ápice (Huang *et al.*, 2004), hecho que lleva a pensar que las diferencias en la absorción del metal pueden ser asignadas al crecimiento y desarrollo de raíces característicos de la especie. Los trabajos de Kumar *et al.* (1995) relacionados con la translocación de plomo hacia el vástago de *Brassica juncea* señalaron que se produce una vez que la capacidad de adsorción de las raíces se ha saturado. Las raíces en activo crecimiento se transformarían en una barrera que restringiría el movimiento del plomo hacia la parte aérea de la planta (Jones *et al.*, 1973^a; Jones *et al.*, 1973^b).

Las plantas que evitan la acumulación en la biomasa aérea, en una amplia gama de concentraciones del plomo en el suelo, aunque puedan concentrar el metal en las raíces, son conocidas como *excluidoras* (Raskin y Ensley, 2000). Peterson (1983) describe este grupo de plantas como aquellas que poseen mecanismos especializados para restringir la absorción de los metales por la raíz, pero debe aceptarse a la vista de los resultados presentados, que el concepto de exclusión definido de esta manera es ambiguo, ya que entre las especies formadoras de céspedes estudiadas en este trabajo, cultivadas sobre suelos contaminados con Pb, el kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) se comportó como excluidora pero tenía un alto potencial de fitoextracción.

CUADRO N° 6. Concentración de plomo en los tejidos subterráneos de *Cynodon* sp, *Stenotaphrum* sp. y *Pennisetum* sp. al finalizar el ensayo.

Especie	Pb en tejidos subterráneos [$\mu\text{g g}^{-1}$] Suelo no contaminado		Pb en tejidos subterráneos [$\mu\text{g g}^{-1}$] Suelo contaminado	
	<i>Cynodon</i> sp.	17 ± 0,8	aA	28 ± 3,3
<i>Stenotaphrum</i> sp.	12 ± 1,5	bA	14 ± 1,5	cA
<i>Pennisetum</i> sp.	7 ± 1,5	cA	37 ± 3,6	aB

-En cada columna letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

-En cada fila letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES

Las especies ensayadas, bermuda híbrida (*Cynodon dactylon* x *C. transvaalensis* cv. *Tifway*), graminilón (*Stenotaphrum secundatum*) y kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) cultivadas como céspedes, pudieron ser consideradas excluidoras del metal

pesado plomo, aún en los suelos contaminados artificialmente en los que el 70% del total se encontraba en formas biodisponibles, sin embargo el kikuyo evidenció un potencial de fitoextracción elevado debido a su rendimiento de materia seca por año.

BIBLIOGRAFÍA

- ADRIANO, D.C. 1992. Bioengineering of Trace Metals. Advances in Trace Substances Research. Lewis, Boca Raton, FL. 513 pp.
- ALLOWAY, B.J. 1995. Heavy Metals in Soils. Blackie Academic and Professional. UK. 367 pp
- BLAYLOCK, M.J.; D.E. SALT; S. DUSHENKOV; O. ZAKHAROVA; C. GUSSMAN; Y. KAPULNIK; B.D. ENSLEY and I. RASKIN. 1997. Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 860-865
- BOHN, H.L.; B.L. MCNEAL y G.A. O'CONNOR. 1993. Química del suelo. Ed. Limusa México DF. 370 pp
- CHANEY, R.L. 1988. Metal speciation and interactions among elements affect trace element transfer in agricultural and environmental food-chains. En J.R. Kramer; H.E. Allen (ed.) Metal speciation: theory, analysis and applications. Lewis Publishers, Chelsea, MI. pp. 218-260
- DUSHENKOV, V.; P.B.A NANDA KUMAR; H. MOTTO and I. RASKIN. 1995 Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams. *Environ. Sci. Technol.* 29: 1239-1245
- HUANG, J.W.; J.E. SHAFF and L.V. KOCHIAN. 2004. Measurement of lead fluxes in corn roots using a lead-selective vibrating microelectrode. *Plant Biology* 2004
- HUANG, J.W. and S.D. CUNNINGHAM. 1996. Lead phytoextraction: Species variation in lead uptake and translocation. *New Phytol* 134:75-84.
- JONES, L.H.P.; S.C. JARVIS and D.W. COWLING. 1973^a. Lead uptake from soils by perennial ryegrass and its relation to the supply of an essential element (sulphur). *Plant Soil* 38: 605-619.
- JONES, L.H.P.; C.R. CLEMENT and M.J. HOPPER. 1973^b. Lead uptake from solution by perennial ryegrass and its transport from roots to shoots. *Plant Soil.* 38: 403-414.
- KOS, B.; H. GRICMAN and D. LEŠTAN. 2003. Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants. *Plant Soil Environ.*, 49 (12): 548-553
- KUMAR, P.B.A.N.; V. DUSHENKOV; H. MOTTO and I. RASKIN. 1995. Phytoextraction: The use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Tech.* 29:1232-1238.
- LASAT, M.M.; A.J.M. BAKER and L.V. KOCHIAN. 1998. Altered Zn compartmentation in the root symplasm and stimulated Zn absorption into the leaf as mechanisms involved in Zn hyperaccumulation in *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol* 118: 875-883.
- LINDSAY, W.L. and W.A. NORVELL. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 42:421-428
- McBRIDE, M.B. 1994. Environmental Chemistry of Soils. Oxford University Press. New York. pp 336-337
- MEEUSSEN, J.C.L.; M.G. KEIZER; W.H. VAN RIEMSDIJK and F.A.M. DE HAAN. 1994. Solubility of cyanide in contaminated soils. *Jour. Environ Qual.* 23: 785-792
- PENG, HONG-YUN; SHENG-KE TIAN and XIAO-E YANG. 2005. Changes of root morphology and Pb uptake by two species of *Elsholtzia* under Pb toxicity. *J. ZHEJIANG UNIV SCI* 6B(6):546-552
- PETERSON, P.J. 1983. Adaptation to toxic metals. In Metals and Micronutrients: Uptake and Utilization by Plants, eds. D.A. Robb and W.S. Pierpoint, pp 51-69, Academic Press, London.

- RASKIN, I. and B. ENSLEY. 2000. *Phytoremediation of Toxic Metals Using Plants to Clean the Environment*. J. Wiley & Sons Inc. USA. 304 pp
- RENDINA, A.E.; Z. PREMUZIC; M.J. BARROS; A.R. GARCÍA; M.F. BARGIELA; J.P. BRICHTA; S. FONTEROSA y A.F. de IORIO. 2002. Biodisponibilidad de metales pesados en sedimentos dragados. XXIV Congreso Argentino de Química, Sta Fe
- SALT, D.E.; I.J. PICKERING; R.C. PRINCE; D. GLEBA; S. DUSHENKOV; R.D. SMITH and I. RASKIN. 1997. Metal accumulation by Aquacultured Seedlings of Indian Mustard. *Environ. Sci. Technol.* 31:1636-1644
- TESSIER, A.; P. CAMPBELL and M. BISSON. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Anal Chem* 51: 844-850
- TLUSTOŠ P.; J. BALÍK; P. DVORÁK; J. SZÁKOVÁ and D. PAVLÍKOVÁ. 2001. Zinc and lead uptake by three crops planted on different soils treated by sewage sludge. *Rostl. Vým.*, 47: 129-134.
- ZHEN-GUO SHEN; XIANG-DONG LI; CHUN-CHUN WANG; HUAI-MAN CHEN and HONG CHUA. 2002. Lead Phytoextraction from Contaminated Soil with High-Biomass Plant Species. *Journal of Environmental Quality* 31:1.893-1.900