



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Grao en Bioloxía

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

Elaboración do proxecto: Fitorremediación de sedimentos dragados da Ría do Burgo.

Elaboración del proyecto: Fitorremediación de sedimentos dragados de la Ría del Burgo.

Grant development: Phytoremediation of dredged sediments of the Ría del Burgo

Jorge Vázquez Alonso

Febrero, 2018

Director Académico: Federico Pomar Barbeito

Introducción general

Contaminación y toxicidad de los metales pesados

Actualmente existen más de un millón de sustancias consideradas como contaminantes en nuestros ríos y rías procedentes de vertidos antropogénicos (Förstner *et al.*, 1993), estas sustancias no tienen por qué estar consideradas como tóxicas, pero sí presentan la capacidad de alterar las propiedades organolépticas del agua, perturbar severamente el ecosistema y/o ser dañinas para el ser humano (Rosas Rodríguez, 2001).

Los cursos de agua han sido utilizados como sumideros para los desechos (en su mayoría líquidos) generados por el hombre desde que este comenzó a crear asentamientos debido a su carácter autodepurador. Esta capacidad fue efectiva hasta la creación de los grandes asentamientos urbanos en la revolución industrial, donde aumentó notablemente la cantidad de vertidos. En consecuencia perdieron su carácter autodepurador produciéndose graves alteraciones en la calidad de sus aguas con sus consiguientes problemas biosanitarios y ecológicos (Rosas Rodríguez, 2001).

Desde aquel entonces los intentos del ser humano por revertir esta situación han sido insuficientes para contrarrestar el incremento de vertidos industriales y el incremento demográfico. Esto con frecuencia ha provocado la conversión de ríos, lagos y zonas costeras en depósitos de contaminantes en los que el equilibrio natural está totalmente alterado o destruido (Förstner & Wittman, 1981; Murray, 1996).

Al contrario que los contaminantes orgánicos los metales pesados no son eliminados de los ecosistemas acuáticos por no ser biodegradables (Förstner & Wittman, 1981; Murray, 1996). Además, presentan un ciclo global eco-biológico, en el que las aguas naturales son su principal camino (figura 1) (Rosas Rodríguez, 2001) y son considerados como buenos indicadores de la calidad ecológica de los flujos de agua por su toxicidad y su carácter bioacumulativo (Purves, 1985; Moalla *et al.*, 1998)

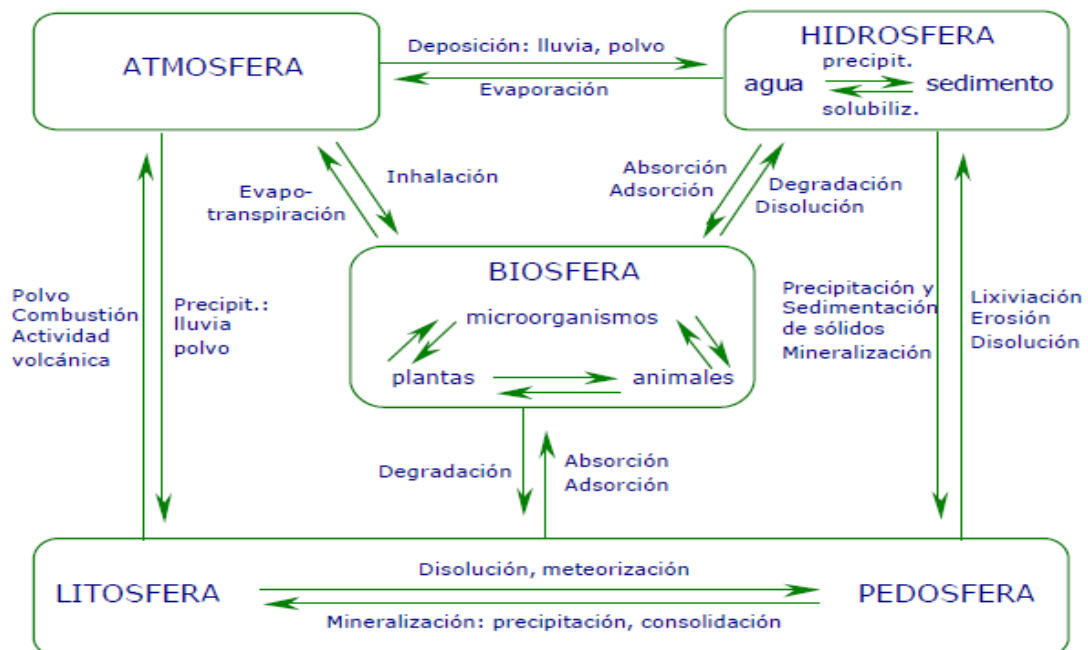


Figura 1. Ciclo biogeoquímico general de los metales pesados (Rosas Rodríguez, 2001).

Muchos de estos metales son esenciales para la vida pero dependiendo de la concentración a la que se encuentren, y del organismo en el que se acumulen se pueden convertir en tóxicos con facilidad. El término "metales pesados" hace referencia a cualquier elemento metálico que presenta una densidad relativamente alta y es tóxico o venenoso, incluso a baja concentración. Los metales pesados abarcan a todos aquellos metales que presenten una densidad mayor a 6 g/cm^3 (Duribe *et al.*, 2007). Hay controversia en cuanto a qué metales conforman este grupo, la siguiente lista es una de las más comunes:

Plomo (Pb), cadmio (Cd), zinc (Zn), mercurio (Hg), arsénico (As), plata (Ag) cromo (Cr), cobre (Cu) hierro (Fe), y los elementos del grupo del platino (Duribe *et al.*, 2007). Dentro de ellos, le daremos más importancia a los que son más tóxicos para los organismos vivos: Cr, As, Pb, Cd y Hg los denominados "elementos pesados" término acuñado por Ferguson (1990).

Se ha comprobado la existencia de metales pesados (Hg, As, Pb, Cd, Zn, Ni o Cr) en diferentes tipos de alimentos, en varias hortalizas (lechuga, repollo, calabaza, brócoli o patatas) y en algunos granos de cereales se han encontrado concentraciones de entre 10 y 150 $\mu\text{g/kg}$. El uso de aguas contaminadas para el riego, puede ser la causa de la presencia de estos metales en los granos de cereales y en las. También se ha detectado presencia importante de metales en peces, carne y leche debido a un proceso bioacumulativo y de movilidad desde fuentes hídricas contaminadas, detectando valores de concentración de entre 1-50 $\mu\text{g/kg}$. Un grupo animal especialmente afectado por los procesos de bioacumulación de los metales pesados son los moluscos marinos, los moluscos filtradores pueden acumular el cadmio disuelto en el agua en forma de péptidos ligadores, habiendo sido detectados valores de entre 100 y 1000 $\mu\text{g/kg}$ (Reyes *et al.*, 2016).

Por su elevada toxicidad, el impacto causado en la salud humana y en los ecosistemas bien por exposición prolongada o por bio-acumulación resulta alarmante. Dependiendo del tipo de metal, se producen afecciones que van desde daños en órganos vitales hasta presentar efectos carcinogénicos, mutagénicos, neurotóxicos o teratogénicos, varias de estas alteraciones son debidas a que ciertas formas de los metales pesados tienen la capacidad de reaccionar con los átomos de azufre presentes en las proteínas, produciendo una desactivación enzimática, o reemplazando otros cationes esenciales en la estructura de las biomoléculas (Reyes *et al.*, 2016, Hamilton *et al.*, 1998). Además, como se ha mencionado anteriormente los metales pesados son bioacumulables, los organismos no consiguen expulsarlos de sus cuerpos, por lo que van ascendiendo a través de la cadena trófica, acumulándose en ella y alcanzando altos niveles en los organismos que se encuentran en la cima de esta, pudiendo producir directamente su muerte, debido a los efectos de las altas concentraciones en los diferentes órganos, o por el desarrollo de las afecciones anteriormente citadas (Ron van de Oost *et al.*, 2002).

Problemática específica en los sistemas acuáticos

En los sistemas acuáticos, los metales pesados tienen cierta predisposición a asociarse con sustancias minerales como carbonatos y sulfatos; y más comúnmente con sustancias orgánicas mediante fenómenos de intercambio iónico, adsorción, quelación, etc. acumulándose en los sedimentos de ríos, lagos y mares (Förstener & Wittmann, 1981; Dekov *et al.*, 1998). Estos elementos son móviles, es decir pueden pasar de fase sólida a líquida como de líquida a sólida debido a variaciones de sus componentes bióticos o abióticos. Debido a esta capacidad de solubilización, normalmente en varias formas químicas, pueden ser ingeridos directamente por el hombre, o por otros organismos, entrando así en la cadena trófica, afectando a los organismos y al ecosistema. Además, debido a la bioacumulación pueden acabar llegando de nuevo al ser humano de manera indirecta (Rosas Rodríguez, 2001).

La fitorremediación como estrategia de descontaminación de metales pesados

Existen varios métodos fisicoquímicos para la remediación de sedimentos contaminados por metales pesados, la vitrificación, la electrocinética, el lavado de suelos, la separación física, etc. Estos métodos son muy costosos, no resultando rentables en grande superficies. Además, alteran las propiedades naturales de los suelos, restringiendo sus posibilidades de uso posterior (Miranda, 2016).

La fitorremediación es el proceso mediante el cual las plantas y los organismos asociados a su rizosfera, secuestran, degradan o inmovilizan contaminantes, entre ellos los metales pesados, tanto de los suelos como de matrices de agua. Las estrategias de fitorremediación suelen apoyarse en la ingeniería genética o en el uso de una microbiota especial en la rizosfera para aumentar su eficacia. A continuación se describen brevemente los diferentes mecanismos de fitorremediación (Marques *et al.*, 2009).

Fitovolatilización: los contaminantes son absorbidos por las raíces, pasando a través de la planta hasta sus hojas donde son volatilizados en el intercambio gaseoso de los estomas.

Fitoestabilización: las plantas reducen la movilidad y la biodisponibilidad de los metales pesados a través de compuestos quelantes (sustancia secuestrante o antagonista de metales pesados que forma complejos con iones).

Fitoextracción: las plantas absorben los metales pesados acumulándolos en sus tallos y hojas, a continuación esta biomasa puede ser cosechada extrayendo así los metales pesados.

Fitofiltración: es el uso de las raíces (Rizofiltración) o de plántulas (blastofiltración) para absorber o adsorber los contaminantes, sobre todo metales pesados, del agua o de flujos de residuos acuosos. Se combina con el cultivo en agua aireada.

Rizodegradación: es el proceso en el que las plantas facilitan la biodegradación de contaminantes orgánicos por medio de la actividad enzimática de la microbiota de su rizosfera.

La fitoextracción

Entre todos estos sistemas la fitoextracción tiene la gran ventaja de la extracción definitiva de los metales del sustrato, permitiendo el uso posterior de los sedimentos tratados y como todas ellas se trata de una técnica ecológica y de bajo coste. Sin embargo, presenta el inconveniente de la larga duración del proceso que dependiendo del grado de contaminación del sedimento y la eficiencia de la especie escogida, puede oscilar entre 5 y 100 años (Koopmans *et al.*, 2007; Lasat, 2000; Van Nevel *et al.*, 2007).

Un factor determinante en la fitoextracción es el uso de plantas adecuadas, para ello la planta debe presentar las siguientes características (Lasat, 2000; Usman, 2012):

- Capacidad de tolerar, incorporar y translocar los metales pesados.
- Desplazar los metales a su parte aérea y/o cosechable.
- Generar una cantidad de biomasa considerable.
- Estar adaptadas a las condiciones edafoclimáticas de la zona de trabajo.

Plantas acumuladoras de metales pesados

Las plantas con la capacidad de tolerar concentraciones elevadas de metales, extraerlos y acumularlos en su biomasa aérea (cosechable) sin presentar síntomas de toxicidad se denominan **plantas acumuladoras**. Para determinar si una planta es acumuladora se utiliza el "factor de bioconcentración" (FCB) que se define como el cociente entre la concentración del metal en el suelo y el cociente de la concentración del metal en la planta, siendo acumuladora cuanto el cociente es mayor a 1 (McGrath & Zhao, 2003).

Dentro de las acumuladoras nos interesan las **hiperacumuladoras**, definidas como aquellas plantas capaces de acumular concentraciones de metales pesados en torno a 1000 ppm para Ni, Co, Cu, Cr y Pb y de 10.000 ppm para Zn, independientemente de que la concentración del metal en el sustrato sea baja (*Baker & Walker, 1990; Padmavathiamma & Li, 2007; Ali et al., 2013*). Estas plantas presentan factores de bioconcentración mucho mayores a 1 pudiendo alcanzar incluso valores cercanos a 50 (*McGrath & Zhao, 2003*). Una característica importante dentro de las plantas hiperacumuladoras es que presenten una relación entre la biomasa aérea/biomasa de las raíces mayor a 1, lo que significa que existe una eficiente translocación a la parte aérea. La velocidad de traslocación depende del flujo/tasa de transpiración (*Epstein & Bloom, 2005*).

Mecanismo de acción

La extracción se realiza siempre a través de las raíces de la planta y puede ser pasiva, mediante el flujo de agua a través de los poros de la pared celular en un proceso no selectivo, o mediante transporte activo. Éste último puede tener lugar a través de las proteínas transportadoras de membrana CDF (cation diffusion facilitator), proteínas específicas de metales como las ZIP-IRT (hierro-sensibles) o proteínas transportadoras de metales pesados tipo P o P1B-ATPasa (Figura 2). Todas estas proteínas se encuentran de forma natural en la membrana celular ya que algunos de los contaminantes inorgánicos son nutrientes para las plantas. La entrada de metales no esenciales a la planta se explica por su similar radio iónico o características químicas parecidas a metales que si lo son, por ejemplo el Ni presenta unas características similares al hierro (son del mismo grupo de metales) por lo que podría entrar en la membrana celular mediante sus transportadores (*Mehes-Smith, et al., 2013; Milner & Kochian, 2008*). No es que estas plantas sean inmunes a la toxicidad de los metales pesados, si no que dentro de las células de las raíces los metales pesados se unen a ligandos como: péptidos, aminoácidos y ácidos orgánicos formando complejos que evitan su toxicidad (*Epstein & Bloom, 2005; Mehes-Smith, 2013*). La capacidad para producir grandes cantidades de estos ligandos es una característica esencial tanto en plantas tolerantes como en las hiperacumuladoras (*Barceló & Poschenrieder, 2003; Rascio & Navari-Izzo, 2011*).

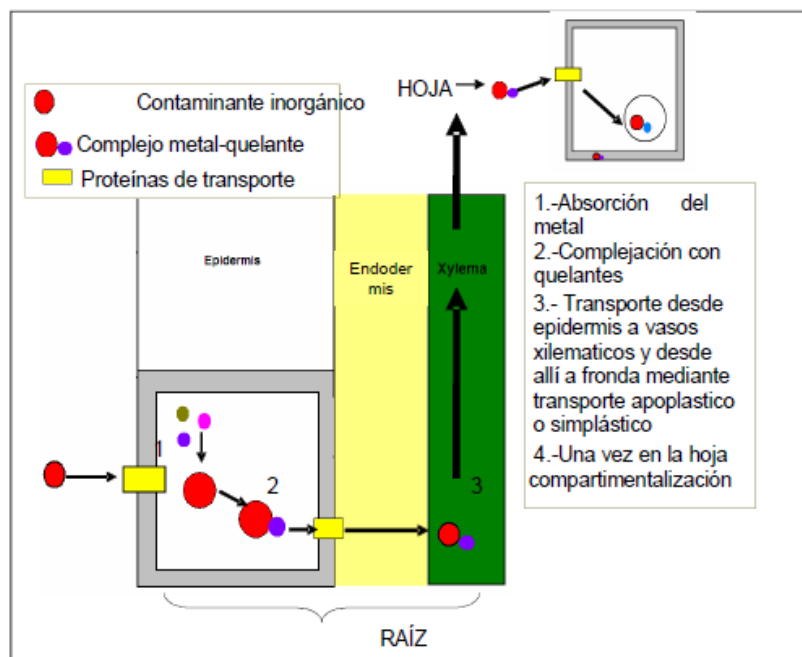


Figura 2. Esquema del mecanismo de acción de una planta hiperacumuladora (Miranda, 2016)

La entrada de metales pesados en las plantas acumuladoras depende, en su mayor medida, de la expresión de los genes codificantes para las proteínas de transporte en las raíces. Estos funcionan mediante un mecanismo de retroalimentación de rango inusualmente amplio, por ejemplo en la especie *Thlaspi caerulescens*, para la inactivación de los genes ZNT-T y ZNT-2 (encargados de codificar para dichos transportadores) hace falta una concentración 50 veces superior a la necesaria en *Thlaspi arvense* (especie relacionada y no acumuladora-tolerante) (Cluis, 2004; Mehes-Smith *et al.*, 2013). Una vez en la planta, el siguiente paso hacia su destino final, en la biomasa aérea, es su incorporación al xilema. Para alcanzarlo deben pasar a través de las células de la endodermis de la raíz y las bandas de Caspary mediado por proteínas tipo-P ATPasas (HMAs) y proteínas tipo-franja amarilla-1 (YSL). Ya en el xilema, los elementos se desplazan mediante difusión simple por el apoplasto xilemático (Milner & Kochian, 2008).

Finalmente, los contaminantes llegan a las hojas vía transporte simplástico o apoplástico (mediado por proteínas YSL) para ser almacenados en las hojas de la planta en concreto en las paredes celulares, en las vacuolas epidermiales y subepidermales o en las vacuolas de los tricomas (Mehes-Smith *et al.*, 2013; Milner & Kochian, 2008). El complejo metal-quelante se disocia cuando el metal llega a su destino. El metal entra mediante transporte activo a la vacuola mediado por proteínas de la familia de las ATPasas, tipo Cpx, Nramp's (natural resistance-associated macrophage proteins), CDF's (cation diffusion facilitator) y CAX's (cation exchanger) (Leitenmaier & Küpper, 2013). Una vez dentro de la vacuola el metal se une de nuevo a otro quelante con el que forma un complejo más estable que con el primero, con el mismo fin (Mehes-Smith *et al.*, 2013; Pilon-Smiths, 2004)

Herramientas para la optimización del proceso

Existen una serie de acciones posibles, para la mejora de los procesos de fitorremediación, a continuación comentaré las principales:

Mejoras agronómicas: mediante el uso de fertilizantes se puede aumentar el establecimiento y la generación de biomasa por parte de las plantas empleadas, también se puede aumentar o disminuir el pH lo que tiene un impacto directo en la absorción de algunos metales (Miranda, 2016).

Aplicación de quelantes: la solubilidad/disponibilidad de los metales pesados en los sustratos nunca es total y muchas veces es reducida, por lo que la planta por sí sola no puede eliminar la totalidad del metal (Pivetz, 2001; Evangelou *et al.*, 2007). Para solucionarlo, los quelantes son una buena opción, el quelante convierte en formas biodisponibles a las formas metálicas ligadas a materia orgánica, carbonatos y óxidos del suelo. Además, aumenta la velocidad de traslocación debido a que el quelante se desplaza por el interior de la planta con mayor facilidad (Do Nascimento *et al.*, 2006).

Mejora genética/Ingeniería genética: las capacidades de extracción, acumulación y traslocación dentro de una misma especie varían entre individuos y también dentro de un ecotipo o una misma población, al igual que lo hace la capacidad de producción de biomasa. Debido a estas variaciones algunos autores recomiendan el uso de mejora genética cruzando los individuos con mejores características con el fin de amplificar estas. (Kidds *et al.*, 2007; Schwartz *et al.*, 2006). También se ha utilizado ingeniería genética con el mismo fin, pero aportando esta la capacidad de combinar genes de taxas sexualmente incompatibles, lo que hace más sencillo combinar las características de hiperacumulación y alta producción de biomasa. Estas prácticas se deben realizar siempre con su debido análisis de riesgos, utilizando genes de especies sin parientes silvestres compatibles, de especies que produzcan machos estériles o cosechando las plantas antes de florecer (Bhargava *et al.*, 2012).

Utilización de micorrizas: son más útiles en la fitoestabilización ya que ellas mismas absorben e inmovilizan los metales además de crear barreras para sus plantas huésped (con baja capacidad de resistencia) frente a los metales pesados permitiéndoles vivir en estas zonas de altas concentraciones. Se han publicado algunos estudios en los que las micorrizas aumentan

las concentraciones de metales en las plantas, pero no de manera considerable y en la mayoría de los casos es debido a que contribuyen en gran medida a la nutrición de las plantas (Miranda, 2016).

En este TFG se plantea el desarrollo de una propuesta de proyecto para tratar lodos contaminados de la ría del Burgo situada en los municipios de A Coruña, Oleiros, Cambre y Culleredo, mediante estrategias de fitorremediación.

ÍNDICE

- 1. Contenido del proyecto: estado del arte de la investigación propuesta (pág. 10).**
- 2. Contenido del proyecto: objetivos del proyecto (pág. 13).**
- 3. Contenido del proyecto: interés para el avance del conocimiento y de la sociedad (pág. 13).**
- 4. Contenido del proyecto: plan de difusión y explotación de resultados (pág. 13).**
- 5. Viabilidad del proyecto: plan de trabajo y metodología (pág. 14).**
- 6. Previsión presupuestaria: destino de la ayuda solicitada (pág. 17).**
- 7. Implicaciones éticas y de bioseguridad (pág. 17).**
- 8. Conclusiones o hechos que se pretenden alcanzar (pág. 17).**
- 9. Bibliografía (pág. 18).**

RESUMEN

Esta propuesta de proyecto tiene como principal objetivo el tratamiento mediante fitorremediación de lodos contaminados de la Ría del Burgo. Está planteado de manera complementaria al actual proyecto de dragado propuesto por el gobierno, tratando parte del material que se extraerá de la ría. Con este fin, se propone la búsqueda de halófitas en la propia ría para posteriormente testarlas sobre los mismo sedimentos que serán dragados (*ex situ*), seleccionar las de mayor rendimiento e intentar optimizarlo mediante la aplicación del quelante EDTA bajo condiciones controladas.

ABSTRACT

This project proposal aims at treating polluted sludge from Ría del Burgo trough phytoremediation. This measure would be complemented by the government's dredging project, treating some of the materials extracted from the stuary. Thus, it is proposed the search for halophytes in the stuary in order to test them on the sediments that will be dredged (*ex situ*), selecting the better performers and aiming from an optimisation through the application of the chelator EDTA under controlled conditions.

PALABRAS CLAVE:

Fitorremediación, fitoextracción, halófitas, EDTA, Ría, Ría del Burgo.

KEY WORDS:

Phytorremediation, phytoextraction, halophytes, EDTA, Stuary, Ría del Burgo.

1.- CONTENIDO DEL PROYECTO: ESTADO DEL ARTE DE LA INVESTIGACIÓN PROPUESTA.

Estado y plan de saneamiento de la ría del Burgo

La ría del Burgo es un espacio marítimo que se sitúa entre los municipios de A Coruña, Oleiros, Cambre y Culleredo. Aunque potencialmente podría ser una zona de marisqueo activo, apenas 92 mariscadores siguen trabajando la ría (52 a pie y 30 a flote), en aquellos lugares donde aún les resulta rentable y el marisco recogido cumple los requisitos sanitarios mínimos, hace tan solo 10 años eran 200 (Manuel Baldomir, portavoz de la asociación de mariscadores de la Ría del Burgo). Por otra parte, también existen actividades furtivas sin su pertinente control sanitario. Además de su valor económico se trata de un espacio escasamente empleado para actividades deportivas y/o lúdicas debido a su mal estado.

Hay ya un plan de saneamiento para la ría del Burgo, el promotor y órgano sustantivo del proyecto es la Dirección General de Sostenibilidad de la Costa y del Mar del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Aprobado por el gobierno estatal de Mariano Rajoy y por el gobierno de la Xunta de Nuñez Feijoo. Este proyecto del gobierno quiere mejorar la calidad de las aguas, recuperar varios bancos marisqueros cerrados por la contaminación y potenciar las actividades lúdico-deportivas en la zona. Todo ello iría de la mano de una ampliación y mejora de los paseos marítimos de los municipios de la zona. Destinando un total de 40 millones de euros, este plan consiste en el dragado de la ría, para ello dividen los sustratos contaminados en tres categorías, siendo procesadas estas según su nivel de concentración y presencia de los diferentes contaminantes, en su gran mayoría metales pesados (Hg, Cd, Pb, Cu, Zn, As, Ni, Cr). El proyecto, publicado en el BOE, explica el tratamiento y la clasificación de los diferentes sedimentos.

“En total se dragarán 281.097,38 m³ en la zona interior de la ría, de los cuales 119.573,49 m³ son de categoría II y 161.523,89 m³ de categoría IIIa o II con toxicidad positiva. Además, se dragará un canal principal, que supondrá movilizar 273.078,66 m³, de los que 169.290,40 m³ son de categoría I y 103.788,26 m³ de categoría II.

El material dragado de categoría I, no contaminado, se empleará en la restitución de la zona intermareal en los sectores dragados correspondientes a la parte interior de la ría y bancos marisqueros de A Maruxa y O Cainzo, así como la mejora del fondo de la laguna de Culleredo. El material obtenido en la zona exterior de la ría se depositará en la playa de Santa Cristina.

El material de categoría II será llevado al punto de vertido definido como zona 2 (P09), situado en las siguientes coordenadas longitud 08° 25' 00" W y latitud 43° 25' 37" N.

El material de categoría IIIa y II con toxicidad positiva será confinado en dos recintos habilitados al efecto: recinto norte (Oleiros) y recinto sur (Culleredo), con 8.055,26 m³ y 153.659,14 m³ de capacidad respectivamente, que hacen un total de 161.714,40 m³.

Los sectores de la zona de marismas en la margen de Culleredo: IX, X y XI, no se dragarán con el fin de preservar la conservación de los hábitats presentes y generar un menor impacto sobre la avifauna.

La ría presenta zonas o sectores con diferentes niveles de contaminación, que de forma general no superan los 50 cm de espesor. Los contaminantes más críticos son mercurio, cadmio, cobre, plomo y zinc, y en algunas estaciones los PCBs.”

Los bifenilos policlorados (PCBs) son una familia de hidrocarburos clorados formada por 209 compuestos, considerados por el Programa de las Naciones Unidas para el medio Ambiente como uno de los 12 contaminantes más nocivos creados por el ser humano. (Faroon & Ruiz, 2016).

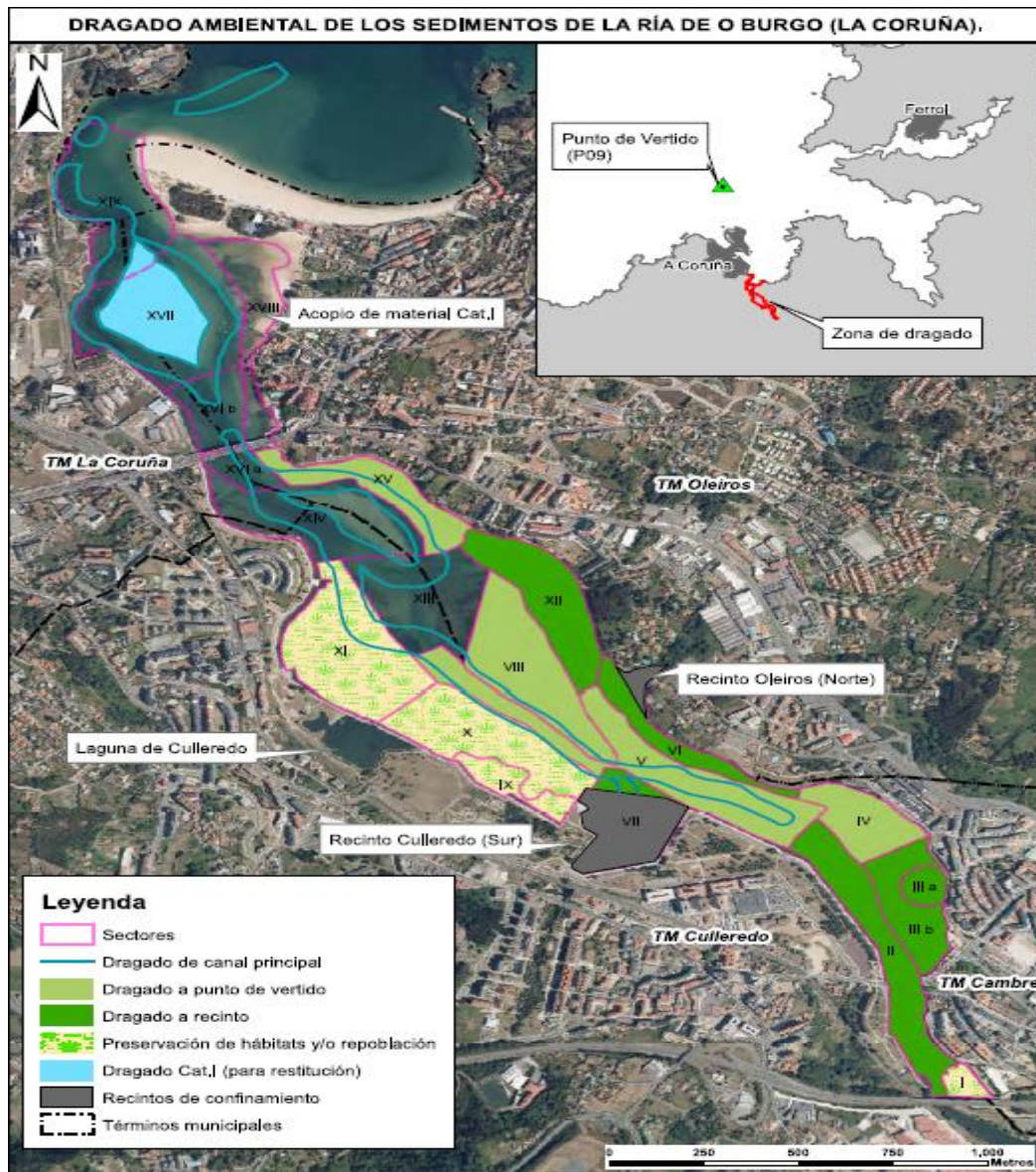


Figura 1. Mapa del dragado previsto de la ría del Burgo. Los sectores categorizados como categoría II, concretamente son los sectores I, IV, V, VIII, IX, X, XI y XV. En la parte superior derecha también podemos observar un pequeño mapa situando el punto de vertido para los materiales de categoría II (punto P09), (BOE, 2016).

Dentro del mismo boletín del gobierno se contemplan diferentes alegaciones a las que el promotor da respuesta, en concreto resulta interesante la planteada sobre el punto de vertido P09, punto cercano a la costa y a las ciudades de Ferrol y A Coruña. Dentro de este aportado son reseñables las siguientes:

“Es necesario ampliar los estudios sobre biocenosis y corrientes marinas en la zona de vertido en el mar (P09). El punto de vertido (P09) está localizado en un caladero de pesca artesanal y en una zona de posible existencia de corales aspecto que habría que esclarecer.”

A lo que el promotor responde: *“Se han realizado estudios de corrientes en la zona (P09) por Puertos de Galicia y CEDEX en 1998. También se han realizado estudios bionómicos de los fondos en los que se comprobó que no existe presencia de alguna especie que se encuentre protegida, o necesite de medidas adecuadas para su conservación. Los muestreos llevados a cabo en esta zona aseguran que no hay presencia de comunidades de coralígeno, aunque de forma esporádica se observaran algunos antozoos.”*

Además de estas alegaciones, también se piden muestreos más prolongados en el tiempo tanto antes como después del vertido, para tener datos de la situación previa y el posible efecto sobre la fauna de la zona, a lo que las respuestas del promotor son las siguientes “Antes del comienzo de las operaciones de vertido, se realizarán estudios ambientales que incluirán medidas *in situ* y análisis de muestras para determinar la calidad de las masas de agua, así como un análisis de muestras de sedimentos y de la batimetría de la zona de vertido. “ “El PVA contempla diversos controles de la calidad del agua con objeto de asegurar que no se van a producir efectos negativos o indeseables sobre las zonas a proteger. “

También es de interés para este proyecto el siguiente fragmento sobre la clasificación de los materiales basándose en las recomendaciones de gestión de los materiales dragados en los puertos españoles (RGMD) (CEDEX, 1994): “581.976 m² de la superficie de la ría serían de categoría I (pueden permanecer en su localización actual ya que sus efectos sobre fauna y flora marina son nulos o prácticamente insignificantes), 708.202 m² están clasificados como categoría II (con concentraciones moderadas de contaminantes se pueden verter al mar de forma controlada), y 199.582 m² están clasificados como categoría IIIa (presentan concentraciones elevadas de contaminantes siendo necesario en caso de dragado su aislamiento blando, se permite la movilización de la fracción fina del sedimento, o tratamiento).”

El proyecto que se presenta se centra en el tratamiento del material de categoría II, el material que se contempla verter en el punto P09 situado tan solo a unos 200 km de la costa de A Coruña, aludiendo que se trata de una zona alejada a cualquier caladero de pesca y sin interés biológico, aunque en las alegaciones claramente se informa de que es una zona próxima a un caladero de pesca artesanal (a lo que el órgano promotor no responde). En opinión de nuestro equipo de investigación, es un sinsentido después de un gran esfuerzo económico, devolver estos contaminantes a otro ecosistema, con la premisa de que al estar alejado de un caladero de pesca, los contaminantes no terminarían afectando a la salud humana, lo cual es cuestionable si tenemos en cuenta que los metales pesados y sus derivados tienen la capacidad de solubilizarse, pudiendo entrar así con facilidad en la cadena trófica y ascender por el conocido proceso de bioacumulación, o ser absorbidos directamente por organismos bentónicos que se alimentan mediante la ingesta de sedimentos entrando también así los metales pesados en la cadena trófica.

Por lo tanto, esta propuesta de proyecto sería complementaria al proyecto de dragado de la Ría del Burgo, con el fin de tratar los llamados materiales de categoría II, proponiendo la fitorremediación, con el objeto de aplicar un tratamiento más respetuoso con el medio ambiente en lugar de tirarlos al mar.

Este tipo de actuación ha sido exitosa en numerosas zonas contaminadas, así cabe destacar los casos de extracción de cromo, cadmio, cobre y zinc en Ciudad de Anichampalayam, distrito de Villupuram, estado de Tamil Nadu, India, y la extracción de aluminio, antimonio, cadmio, cromo, cobre, hierro, níquel, plomo y zinc en las Marismas de Odiel y estuario del río Tinto, Huelva, España.

En el primer caso se trataba de desechos de una industria de curtidumbre que fueron tratados con *Sesuvium portulacastrum*, obteniendo unos niveles de fitoextracción de 49.82 mg/kg de Cr, 22.1 mg/kg de Cd, 35.10 mg/kg de Cu y 70.1 mg/kg de Zn tras 120 días (Durai Ayyappan *et al.*, 2016).

En el caso de las Marismas de Odiel, con un tipo de contaminación y ecosistema similar a la Ría del Burgo, utilizaron la *Spartina maritima* que había sido incorporada al medio en un proceso de repoblación y vieron que, tras 28 meses, se alcanzaban unas extracciones de 3225,6 mg/kg de Al, 39,1 mg/kg de As, 4,5 mg/kg de Cd, 10 mg/kg de Cr, 541,3 mg/kg de Cu, 6579,1 mg/kg de Fe, 663 mg/kg de Ni, 10,9 mg/kg de Pb y 368,9 mg/kg de Zn (G. Curado *et al.*, 2013).

2.- CONTENIDO DEL PROYECTO: OBJETIVOS DEL PROYECTO

El objetivo principal de este proyecto es depurar los sedimentos contaminados de la Ría del Burgo, concretamente los denominados materiales de categoría II. Para esto elegimos la técnica de fitoextracción por ser eficiente y respetuosa con el medio ambiente.

3.- CONTENIDO DEL PROYECTO: INTERÉS PARA EL AVANCE DEL CONOCIMIENTO Y DE LA SOCIEDAD

Hay ya varios estudios y aplicaciones de fitorremediación publicadas, pero sigue siendo una técnica poco trabajada sobre todo debido a los largos periodos que requiere, que no cuadran con la situación sociopolítica de proyectos cortoplacistas para disfrutar de los resultados. Dicho esto, debido a que es una técnica de bajo costo, respetuosa con el medio ambiente y capaz de extraer definitivamente los contaminantes del sustrato permitiendo su posterior uso, cualquier avance o pequeño descubrimiento en este estudio sobre la fitorremediación que ayude a promover, acelerar o aumentar su eficiencia, sería un buen aporte para el conocimiento.

El planteamiento inicial del gobierno, como ya se ha mencionado anteriormente, es verter los sedimentos contaminados al mar, evitar esto y además depurarlos de una forma sostenible es algo que ya debería estar arraigado en nuestra sociedad, confinar o tirar al mar los contaminantes debe ser cosa del pasado, sobre todo cuando tenemos técnicas limpias y eficientes. Este proyecto además de querer evitar el vertido por razones de salud pública y conservación de los ecosistemas (bioacumulación y la capacidad contaminante de los metales pesados), está también planteado para concienciar de que hay que reparar los daños en la naturaleza pensando a largo plazo y sin perjudicar colateralmente otros ecosistemas de menor interés para el ser humano.

Si el único inconveniente es la duración prolongada del proceso, pero la técnica es eficiente, respetuosa con el medio ambiente y barata, este punto en contra puede ser utilizado como herramienta de concienciación hacia la población, mostrando lo costoso que es remediar un problema ambiental en su totalidad, dejando las cosas como estaban antes de ser alteradas por la contaminación, sin recurrir a técnicas que den por perdidos esos sedimentos o puedan perjudicar otros ecosistemas.

4.- CONTENIDO DEL PROYECTO: PLAN DE DIFUSIÓN Y EXPLOTACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados más relevantes de este proyecto serán presentados en congresos internacionales del tipo "ICPTM 2019: International Conference on Phytoremediation, Technologies and Methods, New York, USA" o en congresos nacionales como el Congreso Nacional de Mediambiente que organiza periódicamente la CONAMA. Además se prevé la publicación de al menos un trabajo, en revistas JCR del tipo "International Journal of Phytoremediation" en su modalidad Open Access. Por otra parte, en contacto con el Ayuntamiento de A Coruña y la Diputación Provincial, promoveremos la organización de jornadas divulgativas para sectores actuales y futuros con interés en la explotación y aprovechamiento de la Ría del Burgo, con el fin de asegurar una correcta transferencia del conocimiento generado.

5.- VIABILIDAD DEL PROYECTO: PLAN DE TRABAJO Y METODOLOGÍA

EQUIPO DE TRABAJO

El proyecto será desarrollado por el grupo de investigación en fitorremediación de la Universidade da Coruña (GIFI), constituido por 2 investigadores senior, y 2 alumnos de doctorado. El trabajo contará con la colaboración del grupo de muestreos del IEO de la Coruña, que será el encargado de realizar el muestreo de lodos, ya que disponen de la experiencia y el material necesario para ello. Por su parte el GIFI dispone del equipamiento de laboratorio necesario para la preparación de muestras y el establecimiento de los diferentes ensayos. Los análisis de ICP-MS se realizarán en la unidad de Espectrometría de Plasma-Masas, de los Servicios de Apoyo a la Investigación.

PLAN DE TRABAJO

El proyecto que se plantea tiene una duración de tres años con la siguiente distribución de tareas:

Primer año:

- Recogida de muestras de los lodos contaminados y análisis de estas mediante espectrometría de masas con fuente de plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS), para determinar los metales pesados presentes.
- Realizar un muestreo preferencial de la vegetación presente en la zona y analizar su potencial fitoextractor, mediante la determinación del contenido en metales pesados de sus tejidos (ICP-MS).
- Desarrollo de un ensayo piloto (EP) con las especies inventariadas en el muestreo florístico, que presenten un teórico potencial fitoextractor (niveles más altos de metales), creciendo en los lodos muestreados con un contenido de metales pesados ya conocido.

Segundo año:

- Determinación del nivel de fitoextracción y biomasa en las plantas del EP, selección de aquellas más efectivas.
- Desarrollo de un ensayo de fitoextracción (EF) con las especies seleccionadas, que se harán crecer sobre los lodos recogidos, con y sin la aportación de quelantes.

Tercer año:

- Determinación del nivel de fitoextracción y biomasa en las plantas del EF
- Determinación de la permanencia de los metales en los lodos
- Escalado teórico del ensayo y determinación del número de ciclos de cultivo necesarios para depurar los lodos.
- Elaboración de publicaciones e informes.

CRONOGRAMA

	Primer año	Segundo año	Tercer año
Análisis de lodos	■		
Muestreo florístico			
Ensayo piloto		■	
Ensayo de fitoextracción		■	
Elaboración de resultados			■

METODOLOGÍA

Análisis de lodos

Toma de muestras

Procederemos a realizar un muestreo de los sedimentos de la ría del Burgo, en los sectores categorizados como categoría II, concretamente son los sectores I, IV, V, VIII, IX, X, XI y XV (Figura 1). Según las estimaciones del BOE el volumen total del material dragado en todos estos sectores rondará los 240.000 m³. Además se tomarán muestras del sector XVIII como referencia de una concentración de metales biosaludable.

Tomaremos 10 muestras de 0 a 50 cm de profundidad en cada sector ya que es la profundidad a la que se realizará el dragado y las homogenizaremos para tener un sedimento muy similar al que se obtendrá tras el mismo. Este muestreo será realizado en colaboración con el Instituto Oceanográfico de A Coruña.

Determinación de metales pesados

El análisis de los metales pesados se hará de acuerdo a lo descrito por G. Curado *et al.*, 2013. Una muestra de material homogenizado y otra del sector XVIII se secarán a una temperatura constante de 80 °C durante 48h, después se pulverizarán con un molinillo (Cyclotec, Foss Tecator AB, Hoganas, Sweden) y se tamizarán a 80 µm.

A continuación, las muestras serán llevadas a la unidad de Espectrometría de Plasma-Masas, en la cual se digerirán con 6 ml de HNO₃ y 25 ml de agua ultrapura utilizando un digestor de microondas. La concentración de metales será determinada mediante ICP-MS.

Se plantea la determinación de los siguientes metales: Hg, Cd, Pb, Cu, Zn, As, Ni, Cr.

Muestreo florístico preferencial

Cómo el objetivo del muestreo florístico no es conocer al detalle las poblaciones vegetales del ecosistema, sino seleccionar las principales especies halófitas presentes en la zona, se opta por un sistema de muestreo preferencial. A pesar de que es un método no representativo, nos parece adecuado para el objetivo que persigue este punto del proyecto.

Este muestreo se realizará tanto en sectores de categoría II, IIA y III: I, II, IIIa, IIIb, IV, V, VI, VIII, IX, X, XI, XII y XV (figura 1).

En las especies recogidas se determinará el contenido en metales pesados con el método descrito anteriormente para los lodos.

Estos datos junto a la selección de aquellas especies que presenten ciclos de vida cortos con una buena producción de biomasa, nos servirán para determinar cuáles serán las plantas testadas en el ensayo piloto.

Ensayo piloto

Sembraremos 10 plántulas de cada una de las 5 especies seleccionadas en bolsas de polietileno rellenas de los lodos recogidos en el muestreo (previo secado a temperatura ambiente), con un tiempo de crecimiento de 150 días. Tras el periodo de crecimiento, estas plántulas serán utilizadas para determinar el potencial fitoextractor de cada especie testada. Para determinar la biomasa, las plántulas serán separadas por partes (tallos, hojas, raíces, frutos, flores...) y estas serán lavadas por el siguiente procedimiento: agua potable, HCl (0,1 M), agua desionizada, EDTA (0,05M) y dos últimos enjuagues con agua desionizada, así las plántulas están listas para medir la biomasa de cada una de sus estructuras mediante una balanza analítica (Durai Ayyappan *et al.*, 2016). Posteriormente estas mismas muestras seguirán el procedimiento antes descrito para conocer su concentración en metales pesados.

Para comparar la capacidad extractora de las distintas especies se calculará la cantidad de metal extraído por individuo. Para ello, se multiplica la biomasa total de la planta del individuo por la concentración de metal. Los valores individuales generarán un rango de extracción para cada especie, parámetro con el que se seleccionarán las más efectivas.

Ensayo de fitoextracción

Seleccionaremos las dos especies más efectivas del ensayo piloto, si no ha tenido éxito ninguna de ellas realizaremos este estudio con ejemplares de *Spartina maritima* y *Sesuvium portulacastrum*, plantas con buenos coeficientes de fitoextracción (G. Curado *et al.*, 2013; Durai Ayyappan *et al.*, 2016).

Esta vez el periodo de crecimiento será de 300 días con toma de muestras cada 30 días con el fin de establecer el punto máximo de fitoextracción y sembraremos 50 plántulas de cada especie. Además, paralelamente se sembrarán en las mismas condiciones un duplicado de ambas especies que trataremos con el quelante EDTA a una concentración de 0.05 mmol/kg (se trata de una concentración baja, pero a la que ya surte efecto) para comprobar si existen beneficios en el proceso (Nilima Chaturvedi *et al.*, 2015). La dosis total del quelante será dividida en dos aplicaciones, la primera justo antes del momento de mayor producción de biomasa de la especie en concreto, para asegurar la disponibilidad de los metales y la otra un mes después de la primera por dos motivos, para mantener constante la disponibilidad del metal y para disminuir el riesgo de senescencia y muerte de las plantas (Miranda, 2016).

En las distintas muestras recogidas se determinará el nivel de metales con los métodos ya descritos

Con estos datos, calcularemos la extracción por volumen (mg/m^3) realizando el producto de las tres siguientes variables:

- la extracción por individuo ($\text{mg}/\text{individuo}$).
- la proporción de plantas supervivientes.
- el cociente del número total de individuos partido por el volumen total de lodos utilizado en la plantación ($\text{individuos}/\text{m}^3$).

Así sabremos la cantidad de metales pesados removida por cada m^3 , lo que utilizaremos para calcular el número de ciclos de cultivo necesarios para conseguir depurar los sedimentos.

Utilizaremos las concentraciones de metales pesados del sector XVIII como referencia de sustratos con una cantidad normal y no perjudicial para el medio ambiente como así se determinó en el estudio realizado por el gobierno y publicado en el BOE. Restaremos las concentraciones en metales pesados del sector XVIII a nuestra muestra homogenizada de los sectores categoría II, obteniendo la cantidad de metales pesados necesaria a extraer para depurar el sustrato, conociendo que el volumen total es de alrededor 240.000 m^3 , la capacidad fitoextractora de la especie elegida por volumen de sedimento y dependiendo del tamaño de la futura planta de fitoextracción podemos calcular el número de ciclos de cultivo necesarios para depurar los sedimentos.

6.- PREVISIÓN PRESUPUESTARIA. DESTINO DE LA AYUDA SOLICITADA

Atendiendo al volumen de muestras necesarias para que los resultados sean significativos es preciso contemplar la contratación de al menos un técnico de laboratorio a tiempo completo durante dos años y medio del proyecto.

CONCEPTOS	2020	2021	2022
Personal contratado	15.000€	15.000€	7.500€
Equipamiento científico-técnico	0	0	0
Material bibliográfico indispensable para a realización do proxecto	0	0	0
Material fungible	5.000€	7.500€	2.500€
Ayudas de coste por desplazamiento	1.000€	1.000€	5.000€
Análisis de metales por ICP-MS*	5.934€	13.488€	53.952€
Publicación OA			2.000€
Costes indirectos (máximo 20%)	5.386,8€	7.397,6€	14.190,4€
TOTAL	32.320,8€	44.385,6€	85.142,4€

*Calculado según las tarifas clase A publicadas por el SAI de la UDC

7.- IMPLICACIONES ÉTICAS Y/O DE BIOSEGURIDAD

Teniendo en cuenta que la investigación planteada no incluye el uso de animales, OMG, de personas ni de sus datos, no es necesario el visto bueno de un comité de ética. No se contempla tampoco que con el desarrollo del proyecto se pueda generar ningún otro conflicto ético.

En cuanto a los aspectos de seguridad, el peligro de lixiviado de los lodos será minimizado utilizando espacios adecuados y con un grado de confinamiento alto.

Los miembros del grupo de investigación que llevará a cabo el proyecto tienen experiencia y formación suficiente para trabajar en las condiciones de seguridad necesarias. Para ello, seguirán las normas y consejos del Servicio de Prevención de Riesgos de la UDC.

Para la toma de muestras necesaria, el equipo de investigación solicitará los permisos correspondientes a la Consellería do Mar de la Xunta de Galicia. Asimismo, y en el caso de que el proyecto sea aprobado, contemplamos informar a los ayuntamientos implicados y a las cofradías de pescadores y mariscadores que operan en la zona.

8.- CONCLUSIONES O HECHOS QUE SE PRETENDEN ALCANZAR

Este proyecto está totalmente enfocado a conseguir depurar los sedimentos de categoría II para no afectar al ecosistema marino, por otro lado, dar un nuevo uso a estos sedimentos como relleno de zonas de la ría tras el dragado también es de interés. Además, encontrar una halófito con un buen potencial fitoextractor que sirva para remediar otras zonas con contaminación similar, sería un gran avance para la sociedad.

This project is primarily focused on achieving purification of the category II sediments in order to not impact the marine ecosystem. Moreover, it would be favourable to give a new use to these sediments as filling of the estuary after the dredging. Finally, finding halophytes with a good phytoextractor potential that could aid other areas with similar pollution conditions could be extremely beneficial for society.

9.- BIBLIOGRAFÍA.

- Förstner, U., Ahlf, W. & Calmano, W. (1993). Sediment quality objectives and criteria development in Germany. *Water Science Technology*, 28(8-9), 307-316.
- Rosas Rodríguez, H. (2001). Estudio de la contaminación por metales pesados en la cuenca del Llobregat (Tesis Doctoral). <http://hdl.handle.net/10803/6978>
- Förstner, U. (1981). Metal pollution assessment from sediment analysis. En: *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Förstner & Wittman (Eds.), Springer-verlag, Berlin, Chapt D, 110-196.
- Purves, D. (1985). trace element contamination of the environment. Elsevier, Amsterdam, 260.
- Moalla, S.M., Awadallah, R.M., Rashed, M.N. & Soltan, M.E. (1998). Distribution and chemical fractionation of some heavy metal in bottom sediments of Lake Nasser. *Hydrobiologia*, 364, 31-40.
- Duruibe, J. O., Ogwuegbu, M. O. C. & Ekwurugwu, J. N. (2007). Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences*, 2(5), 112-118.
- Reyes, Y. C., Vergara, I., Torres, E. O., Díaz, M. & González, E. E. (2016). Heavy metals contamination: implications for health and food safety. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo, Colombia*, 16(2), 66-77.
- Hamilton, W. J., Ronald, C. K., Olga, V. B., Michael, A. I., Jennifer, M., Bruce, W. T., Erin, E. R., Jannet, O., Michael, J. N., Carrie, A. P. & Jean, R.L. (1998). Molecular basis for effects of carcinogenic heavy metals on inducible gene expression environmental health perspectives, 106(4).
- Van der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N. P. E., (2002). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 57-149.
- Dekov, V.M., Araujo, F., Van Grieken, R. & Subramanian, V. (1998). Chemical composition of sediments and suspended matter from the Cauvery and Brahmaputra rivers (India). *The Science of the Total Environment*, 212, 89-95.
- Miranda, M. I. G. (2016). Mejoramiento de la fitoextracción en plantas nativas en suelos contaminados por actividades mineras en Puchuncaví y Quintero (Tesis Doctoral). <http://hdl.handle.net/10803/404215>
- Marqués, P. G. C., Rangel, O. S. S. & Paula M. L. Castro (2009). Remediation of Heavy Metal Contaminated Soils: Phytoremediation as a Potentially Promising Clean-Up Technology, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 39(8), 622-654.
- Koopmans, G. F., Römkens, A. M., Song, J., Temminghoff, E. J. & Japenga, J. (2007). Predicting the Phytoextraction Duration to Remediate Heavy Metal Contaminated Soils. *Water, Air and Soil Pollution*, 181, 355-371.
- Lasat, M. (2000). *The Use of Plants for the Removal of Toxic Metals from Contaminated Soil*. Washington D.C, USA. Environmental Protection Agency. 33 pp.

- Van Nevel, L., Mertens, J., Oorts, K. & Verheyen, K. (2007). Phytoextraction of metals from soils: How far from practice? *Environmental Pollution*, 150(1), 34-40.
- Usman, A., Soo Lee, S., Awadm, Y., Jae Lim, K., Yang, J. & Sik, Y. (2012). Soil pollution assessment and identification of hyperaccumulating plants in chromated copper arsenate (CCA) contaminated sites, Korea. *Chemosphere*, 87, 872-878.
- McGrath, S. & Zhao, F.-J. (2003). Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(3), 277-282.
- Baker, A., & Walker, P. (1990). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. Heavy metal tolerance in plants. In: A. J. Shaw (Ed.), *Evolutionary Aspects* (pp. 155-177). Boca Raton, Florida. CRC Press.
- Padmavathiamma, P. & Li, L. (2007). Phytoremediation Technology: Hyperaccumulation Metals in Plants. *Water, Air, and Soil Pollution*, 184(1-4), 105-126.
- Ali, H., Khan, E. & Sajad, M. (2013). Phytoremediation of heavy metals: Concepts and applications. *Chemosphere*, 91(7), 869-881.
- Epstein, E., & Bloom, A. (2005). *Mineral nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, Inc.
- Mehes-Smith, M., Nkongolo, K. & Cholewa, E. (2013). Coping mechanisms of plants to metal contaminated soil. In: Silvern, S. (Ed.), *Environmental change and sustainability InTech*.
- Milner, M. & Kochian, L. (2008). Investigating Heavy-metal Hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a Model System. *Annals of Botany*, 102(1), 3-13.
- Barceló, J., & Poschenrieder, C. (2003). Phytoremediation: Principles and perspectives. *Contributions to Science*, 2, 333-344.
- Rascio, N. & Navari-Izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169-181.
- Cluis, C. (2004). Junk-greedy greens: Phytoremediation as a new option for soil descontamination. *BioTeach Journal (Canadá)*, 2, 62-68
- Pilon-Smiths, E. (2004). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 15-39.
- Pivetz, B. (2001). Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites (Ground Water Issue EPA/540/S-01/500). Ada: EPA Ground water issue. Office of Solid Waste and Emergency Response. EPA/540/S-01/500.
- Evangelou, M., Ebel, M. & Schaeffer, A. (2007). Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. *Chemosphere*, 68(6), 989-1003.
- Do Nascimento, C., Amarasiriwardena, D. & Xing, B. (2006). Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environmental Pollution*, 140(1), 114-123.

- Kidds, P. S., Becerra, C., García, M. & Monterroso, C. (2007). Aplicación de plantas acumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L. *Ecosistemas* (España), 16, 489.
- Schwartz, C., Sirguy, C., Peronny, S., Reeves, R. D., Bourgaud, F. & Morel, J. L. (2006). Testing of Outstanding Individuals of *Thlaspi Caerulescens* for Cadmium Phytoextraction. *International Journal of Phytoremediation*, 8(4), 339-357.
- Bhargava, A., Carmona, F. F., Bhargava, M. & Srivastava, S. (2012). Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Journal of environmental management*, 105, 103-120.
- Resolución del 11 de septiembre de 2017, declaración de impacto ambiental del proyecto Dragado Ambiental de los Sedimentos de la Ría de O Burgo (A Coruña), Boletín Oficial del Estado (BOE), núm. 233 pp. 94387. https://www.boe.es/diario_boe/ BOE-A-2017-10990
- Ayyappan, D., Sathiyaraj, G. & Konganapuram, C. R. (2016). Phytoextraction of heavy metals by *Sesuviumportulacastrum* l. a salt marsh halophyte from tannery effluent. *International Journal of Phytoremediation*, 18(5), 453-459.
- Curado, G., Rubio-Casal, A. E., Figueroa, E. & Castillo, J. M. (2014). Potential of *Spartina maritima* in Restored Salt Marshes for Phytoremediation of Metals in a Highly Polluted Estuary. *International Journal of Phytoremediation*, 16(12), 1209-1220.
- Chaturvedi, N., Dhal, N.K. & Patra, H.K. (2015). EDTA and citric acid mediated phytoextraction of heavy metals from iron ore tailings using *Andrographis paniculata*: a comparative study. *International Journal of Mining, Reclamation and Environment*, 29(1), 33-46.
- Faroon, O., & Ruiz, P. (2016). Polychlorinated biphenyls: New evidence from the last decade. *Toxicology and Industrial Health*, 32(11), 1825-1847.