

USO DEL VETIVER PARA LA FITORREMEDIACIÓN DE CROMO EN LODOS RESIDUALES DE UNA TENERÍA *

USE OF VETIVER FOR THE FITOREMEDIATION OF CHROMIUM IN RESIDUAL SLUDGES IN A TANNERY

Duilio Torres Rodríguez^{1§}, Adriana Cumana², Odalis Torrealba² y Diana Posada²

¹Universidad Centro Occidental "Lisandro Alvarado". Unidad de Investigación de Suelos y Nutrición Mineral de Plantas. Edificio la Colina. Departamento de Química y Suelos. C. P. 3001. ²Universidad Nacional Experimental Politécnica "Antonio José de Sucre". Programa de Ingeniería Química Vicerrectorado Barquisimeto. Departamento de Ingeniería Química. Avenida Corpahuaico. A. P. 3001. (cumanamoron@hotmail.com). [§]Autor para correspondencia: duiliotorres@ucla.edu.ve.

RESUMEN

En este estudio se evaluó el uso del vetiver (*Vetiveria zizanioides*) para la fitorremediación de lodo residual de la industria curtiembre que presenta altos valores de cromo (21 000 mg kg⁻¹), dado que durante el proceso de curtiembre se utilizan grandes cantidades de cromo para evitar la descomposición del cuero; asimismo, se evaluó un sustrato, el cual posee atributos que mejoran las condiciones edáficas para el desarrollo de vetiver. El ensayo consistió en un experimento completamente al azar, evaluando los siguientes tratamientos: T1= lodo contaminado sin plantas de vetiver; T2= lodo contaminado + plantas de vetiver; T3= lodo contaminado + abono orgánico + plantas de vetiver; T4= abono orgánico + plantas de vetiver. Después de 15 y 45 días de sembrado el vetiver, se estimó la concentración de cromo en el lodo y en la planta. Además, se midió altura de planta, biomasa de raíces y parte aérea en función de peso seco a 7, 15, 30 y 45 días después de la siembra. Los datos fueron estudiados mediante análisis de varianza y prueba de Tukey usando el programa INFOSTAT 1.0.1. Los resultados obtenidos mostraron una reducción de niveles de cromo en el tratamiento T2, con respecto a valores iniciales de lodo en 30% a 15 días y en 9% a 45 días; no obstante, los resultados señalan que la cantidad de cromo absorbido por la planta fue 3.49 mg en aquellos tratamientos donde se sembró vetiver, observándose en este tratamiento una concentración de 596.92 mg kg⁻¹

ABSTRACT

This study evaluated the use of vetiver (*Vetiveria zizanioides*) for the phytoremediation of residual sludge in the leather industry, which presents high chromium values (21 000 mg kg⁻¹), given that large amounts of this metal are used during the tanning process to keep the leather from rotting; likewise, a substrate was evaluated, which has attributes that improve the edaphic conditions for the growth of vetiver. For this purpose, an experimental study was carried out with a random design, which evaluated the following treatments: T1= polluted sludge without vetiver plants; T2= polluted sludge + vetiver plants; T3= polluted sludge + organic fertilizer + vetiver plants; T4= organic fertilizer + vetiver plants. After 15 and 45 days of having planted the vetiver, the concentrations of chromium in the sludge and the plant were estimated. Plant height, root biomass and aerial parts were also measured, based on dry weight at 7, 15, 30 and 45 after planting. The data were studied with analysis of variance and Tukey tests, using the program INFOSTAT 1.0.1. Results showed a drop in chromium levels in treatment T2, in respect to initial sludge values in 30% at 15 days and in 9% at 45 days. However, results indicate that the plant absorbed 3.49 mg of chromium in treatments in which vetiver was grown. This treatment displayed a concentration of 596.92 mg kg⁻¹ of chromium in

* Recibido: junio de 2009
Aceptado: marzo de 2010

de cromo en el tejido foliar, este valor es significativamente superior al encontrado en los tratamientos donde se sembró vetiver + lodo + abono, donde el porcentaje de cromo absorbido correspondió a 1.11% el cual representa una concentración de 190.3 mg kg⁻¹ de cromo en el tejido foliar.

Palabras clave: contaminación, cromo, fitorremediación, metales pesados, vetiver.

INTRODUCCIÓN

La gran diversidad de metales tóxicos que genera la industria en sus desechos sólidos constituye una amenaza para el medio ambiente y los ecosistemas, además que pueden ser letales por sus altas concentraciones o bien se manifiestan en mutaciones, cáncer, nefropatías, entre otros. Ante esto, se requiere encontrar métodos idóneos para remover los iones de metal de lodos residuales a través de nuevas tecnologías como la fitorremediación; ya que esta tecnología es altamente eficiente y selectiva para la remoción de metales tóxicos. En tal sentido, se han realizado diferentes investigaciones relacionadas con la recuperación de aguas, lodos y suelos contaminados con metales pesados; por ejemplo, De Souza *et al.* (1999), estudiaron la fitoacumulación de trazas de Cd (II), Cr (VI), Cu (II), Ni (II) y Se (VI) con la especie lirio de agua (*Eichhornia crassipes*), observando que el lirio de agua acumula mejor Cd, Cr, Se y Cu en niveles moderados y en menor cantidad el Ni.

Por su parte Álvarez *et al.* (2004), evaluó dos especies vegetales, *Scirpus americanus* (Tule) y *Typha latifolia* (Espadaña), destacando la capacidad de estas para acumular Pb, Cr, Cd, Mn y Fe en la raíz y el tallo. Asimismo, Alvarado y Guédez (2003) estudiaron la capacidad de remoción de arsénico por fitorremediación entre las especies lirio de agua (*Eichhornia crassipes*) y lenteja de agua (*Lenna minor*), encontrando altas tasas de remoción de éstos.

Una de las plantas que ha cobrado importancia en la fitorremediación es el vetiver, dada su alta resistencia a ambientes extremos, condiciones de stress y acidez; en este sentido Roongtanakiat y Chairroj (2001); Troung y Baker (1998), demostraron que el vetiver es eficiente para la eliminación de zinc, plomo y cromo, aunque a altas concentraciones la presencia de los mismos inhibe la producción de materia seca y la tasa fotosintética; no obstante, las aplicaciones de nitrógeno podrían evitar el efecto adverso del mismo.

foliar tissue, significantly higher than what was found in treatments with vetiver + sludge + fertilizer, where the percentage of chromium absorbed was 1.11% or a concentration of 190.3 mg kg⁻¹ of chromium in foliar tissue.

Key words: chromium, heavy metals, phytoremediation, pollution, vetiver.

INTRODUCTION

The large diversity of toxic metals that industries release in their solid wastes are a threat for the environment and for ecosystems, and can also be lethal due to their high concentrations, or can cause mutations, cancers, nephropathies, etc. Faced with this, it is crucial to find methods to remove metal ions from residual sludge through new technologies such as phytoremediation, since this technology is highly effective and selective for removing toxic metals. In this sense, there have been different studies on the recovery of water, mud and soils polluted with heavy metals; for example, De Souza *et al.* (1999), studied the phytoaccumulation of traces of Cd (II), Cr (VI), Cu (II), Ni (II) and Se (VI) with the common water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), noticing that this plant accumulates Cd, Cr, Se and Cu better at moderate levels and less amounts of Ni.

Likewise, Álvarez *et al.* (2004) evaluated two plant species, *Scirpus americanus* (Tule) and *Typha latifolia* (Espadaña), emphasizing their capability of accumulating Pb, Cr, Cd, Mn and Fe in roots and stems. Also, Alvarado and Guédez (2003) studied the capacity of removal of arsenic by phyto remediation amongst the species water hyacinths (*Eichhornia crassipes*) and duckweeds (*Lenna minor*), finding high removal rates.

A plant that has become very important in phyto remediation is the vetiver, due to its high tolerance to extreme environments, stress and acidity conditions; in this sense Roongtanakiat and Chairroj (2001); Troung and Baker (1998), showed that the vetiver is efficient for removing zinc, lead and chromium, although the presence of these at high concentrations inhibits the production of dry matter and rate of photosynthesis; however, applying nitrogen could avoid its adverse effect.

Dado que el alto contenido de metales pesados en lodos industriales se ha convertido en un gran problema para la industria, debido a sus efectos tóxicos sobre la mayor parte de los organismos vivos puesto que este es bioacumulable y afecta las fuentes biológicas; se han buscado procedimientos adecuados para la reducción del contenido de cromo en lodos residuales generados en la industria de tenerías del municipio Palavecino del estado Lara; por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el uso del vetiver (*Vetiveria zizanioides*), como estrategia de fitorremediación para la remoción de cromo presente en lodos residuales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del experimento. Se colectaron lodos provenientes de la empresa Curtiembres Venezolana C. A. Ubicada en la Intercomunal Cabudare-Barquisimeto, municipio Iribarren. Una vez colectadas las muestras, se procedió a la caracterización química del lodo en el laboratorio de suelos de la Universidad Lisandro Alvarado y posteriormente se llevó a cabo el ensayo de fitorremediación en la estación experimental “Miguel Luna Lugo” de la Universidad Centro Occidental “Lisandro Alvarado”.

Diseño experimental. El diseño experimental consistió en un estudio completamente al azar con arreglo de tratamientos de tipo factorial, donde se evaluaron varios sustratos con y sin vetiver; utilizando lodos contaminados con cromo y abono libre de contaminante. En el Cuadro 1, se explican los cuatro tratamientos replicados 10 veces para formar un total de 40 unidades experimentales. Las unidades experimentales fueron macetas, en las cuales se colocaron 10 kg de lodo y en aquellos tratamientos donde se combinó el abono orgánico más el lodo, se trabajó en una proporción 1:1; es decir, 5 kg de lodo + 5 kg de sustrato.

Cuadro 1. Tratamientos de fitorremediación utilizados en el ensayo.

Table 1. Phyto remediation treatments used in the test.

Tratamiento	Descripción del tratamiento
T1	Lodo contaminado sin vetiver
T2	Lodo contaminado + vetiver
T3	Lodo contaminado + abono orgánico + vetiver
T4	Abono orgánico + vetiver

Given that the high amounts of heavy metals in industrial sludge has become an important problem for the industry, due to its toxic effects on most living organisms, because it is bioaccumulable and it affects biological sources, there has been much searching for adequate procedures to reduce chrome content in residual sludges produced by the tanning industry in the municipality of Palavecino of the estate Lara. Therefore, the aim of this work was to evaluate the use of vetiver (*Vetiveria zizanioides*) as a phyto remediation strategy to remove chromium in residual sludges.

MATERIALS AND METHODS

Location of the experiment. Sludge was gathered from the company Curtiembres Venezolana C. A., located in the Intercomunal Cabudare-Barquisimeto, in the municipality of Iribarren. Once the samples were taken, the chemical characterization of the sludge began in the soil laboratories of the Universidad Lisandro Alvarado, and then the phyto remediation test was carried out in the “Miguel Luna Lugo” experimental station of the Universidad Centro Occidental “Lisandro Alvarado”.

Experimental design. The experimental design consisted of a completely random study with factorial treatment arrangement, in which various substrates with and without vetiver, using sludge polluted with chromium and pollutant-free fertilizer. Table 1 explains the four treatments, replicated 10 times to form a total of 40 experimental units. The experimental units were pots, each with 10 kg of sludge, and in treatments in which it was combined with organic fertilizer; the proportion was 1:1, or 5 kg of sludge + 5 kg of substrate.

Sludge characterization. For the characterization of residuals sludge, chemical and physical parameters associated to the cations retaining capacity, and that could affect plant growth, were established. The chemical variables evaluated were organic matter (Walkley and Black, 1934), electrical conductivity (conductivity meter), calcium, magnesium, potassium, sodium and cationic exchange capacity (extraction with ammonium acetate and quantification by atomic absorption); the micronutrients copper, iron and zinc were also established.

Characterization of organic fertilizer used. The organic fertilizer used is a mixture of the compost of sugarcane cachaza and dry fiber, which was obtained from the

Caracterización de los lodos. Para la caracterización de lodos residuales, se determinaron parámetros químicos y físicos asociados a la capacidad de retención de cationes y que pudiesen afectar el desarrollo de las plantas. Las variables químicas evaluadas fueron materia orgánica (Walkley y Black, 1934), conductividad eléctrica (conductímetro), calcio, magnesio, potasio, sodio y capacidad de intercambio catiónico (extracción con acetato de amonio y cuantificación por absorción atómica), también fueron determinados los micronutrientes cobre, hierro y zinc.

Caracterización de abono orgánico empleado. El abono orgánico empleado es producto de la mezcla del compost de la cachaza y bagazo de caña, éste se obtuvo del producto comercializado bajo el nombre de abono “La Pastora” por la central azucarera del mismo nombre, el cual se localiza en la población la Carora, municipio Torres del estado Lara, aplicándose en una relación de 1:1. El abono orgánico empleado fue analizado para determinar nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y materia orgánica (MO), en el laboratorio de la unidad de investigación en suelo y nutrición mineral de plantas de la Universidad Lisandro Alvarado.

Método fitorremediación. Como planta fitorremediadora se utilizó el vetiver, la cual fue sembrada en macetas plásticas de 26 cm de diámetro superior por 20.4 cm de diámetro inferior y con una altura de 26 cm para una capacidad aproximada de 10 kg de peso cada uno. La reproducción del material vegetal, se llevó a cabo en una parcela libre de agentes contaminantes, para garantizar la adaptación y desarrollo de las mismas en un ambiente natural.

Variables de las plantas evaluadas. Se midió altura de plantas y número de hojas a 7, 15, 30 y 45 días; asimismo, se evaluó la concentración de cromo en el tejido foliar de las mismas a 15 y 45 días después de la siembra, adicionalmente después de 45 días de haber sembrado el vetiver, se evaluaron los parámetros de rendimiento tales como: biomasa aérea, biomasa radical y longitud de raíces. Para la biomasa aérea y de raíces se extrajeron las plantas con tallo incluido, posteriormente se separaron las raíces del tallo, se lavaron con agua desionizada para eliminar los residuos de suelo, posteriormente se registró el peso húmedo y se procedió al secado de la biomasa de raíces y biomasa aérea en estufa a 50 °C hasta alcanzar un peso homogéneo.

Análisis de cromo en lodos. Para la determinación del contenido total de cromo se empleó el método de Bradford *et al.* (1975), el cual utiliza HNO₃ 4N como extractante. Una

product commercialized under the name of “La Pastora” fertilizer, by the sugar company with the same name, found in the town of Carora, municipality of Torres in the state of Lara; the product was applied in a proportion of 1:1. The organic fertilizer used was analyzed to establish nitrogen, phosphorous, potassium, calcium, magnesium and organic matter (MO) contents, in the soil and plant mineral nutrition research unit lab of the Universidad Lisandro Alvarado.

Phytoremediation method. Vetiver was used as a phytoremediating plant, which was grown in plastic pots that measured 26 cm (top diameter) and 20.4 cm (lower diameter) and a height of 26 cm, for an approximate weight of 10 kg each. The reproduction of plant material was carried out in a pollutant-free land plot, so as to ensure adaptation and growth in a natural environment.

Variables of the evaluated plants. Plant height and number of leaves were recorded on days 7, 15, 30 and 45; likewise, the concentration of chromium in foliar tissue was evaluated in days 15 and 45 after sowing. In addition, 45 days after planting vetiver, the yield parameters were evaluated, including aerial biomass, radical biomass and root length. For aerial and root biomass, plants were extracted with the stem, the roots were then separated from the stem, and washed with distilled water to eliminate soil residues; later, wet weight was recorded and the root and aerial biomasses were dried in a heater at 50 °C until reaching a homogenous weight.

Chrome analysis in sludge. In order to establish the total content of chromium, the method by Bradford *et al.* (1975) was used, which uses HNO₃ 4N as an extractant. Once the chrome was extracted, it was quantified using atomic absorption spectrophotometry. Soil analyses were carried out in the soil and plant mineral nutrition research unit lab of the Universidad Lisandro Alvarado. For this analytical procedure 150 g of sludge were taken 15 and 45 days after plantation, in airtight-sealing plastic bags. Samples were pulverized and one gram of this was weighed in an analytical scale, to then be placed in crucibles and taken to the furnace, where it was digested with concentrated nitric acid and 5 ml distilled water, and then the chromium was using atomic absorption spectroscopy.

Total chromium in foliar tissue (aerial and radical biomass). To determine chromium levels in foliar tissue, the method by Bradford *et al.* (1975) was used. For this,

vez extraído el cromo se midió mediante espectrofotometría de absorción atómica. Los análisis de suelo fueron realizados en el laboratorio de la unidad de investigación en suelo y nutrición mineral de plantas de la Universidad Lisandro Alvarado. Para este procedimiento analítico, se tomaron 150 g de lodo a 15 y 45 días después de la siembra en bolsas plásticas de cierre hermético. Las muestras fueron pulverizadas y se pesó un gramo de estas en una balanza analítica, para así ser colocadas en crisoles y llevadas a la mufla, en donde se realizó la digestión con ácido nítrico concentrado más 5 ml de agua desionizada y se procedió a la cuantificación del cromo mediante espectroscopia de absorción atómica.

Cromo total en tejido foliar (biomasa aérea y radical). Para la determinación de cromo a nivel foliar se empleó el método de Bradford *et al.* (1975). Para ello se pesaron entre 0.5 y 1.5 g de tejido seco de plantas y raíces, estas al igual que las muestras de lodo requirieron de una previa preparación, debiendo las mismas ser trituradas en un molino especial para tejido foliar, las concentraciones de cromo en estos tejidos también fueron determinadas usando el método de espectroscopia de absorción atómica en llama. Un gramo de la muestra de tejido foliar fue colocada en un crisol de porcelana y colocada en una mufla a 500 °C por 12 h. El residuo es disuelto con 5 ml HNO₃ y diluido con agua deionizada hasta un volumen de 50 ml.

Análisis estadístico. Se realizó un análisis de varianza (ANAVAR) para determinar las posibles diferencias entre los distintos tratamientos evaluados. En aquellas variables donde se detectaron diferencias significativas, se realizaron pruebas de medias y el valor de probabilidad seleccionado en el estudio fue de $p < 0.05$. El análisis estadístico se realizó usando el paquete computarizado infostat (versión 1.0).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del lodo residual: Previo a la siembra del material vegetal, se procedió a la caracterización del lodo, determinando pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, potasio, calcio, magnesio, sodio, fierro, zinc y cromo, los resultados se reportan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Características del lodo residual.

Table 2. Characteristics of residual sludge.

pH (1:2)	CE (dS m ⁻¹)	MO (g kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	Na (mg kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	Cr (mg kg ⁻¹)
7.9	15	140	188	25 470	400	21 977	103	18	21 000

CE= conductividad eléctrica; MO= materia orgánica.

between 0.5 and 1.5 g of plant and root dry tissue were weighed; these, like the sludge samples, required previous preparation, which consisted of grinding them in a special grinder for foliar tissue, chromium concentrations in these tissues were also determined using the method of atomic absorption spectroscopy over a flame. One gram of the sample of foliar tissue was placed in a china crucible and then in a furnace at 500 °C for 12 h. The residue is dissolved with 5 ml HNO₃ and diluted with distilled water until reaching a volume of 50 ml.

Statistical analysis. An analysis of variance (ANOVA) was carried out to determine the possible differences between different treatments evaluated. In the variables where significant differences were found, mean comparison tests were carried out and the value of probability selected in the study was $p < 0.05$. The statistical analysis was carried out using the computer package Infostat (version 1.0).

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of residual sludge: Before sowing the plant material, the sludge was characterized, determining pH, electrical conductivity, organic matter, potassium, calcium, magnesium, sodium, iron, zinc and chromium, Table 2 shows the results.

The results show high concentrations of chrome in the sludge which surpasses the values normally permitted by international legislation; these results show that the metallic concentrations present in the sludge studied make it unviable for applying in agricultural soils, since it can cause harmful effects when used as a supplement (mineral organ) for soil conditioning, affecting crop and soil quality; it is worth mentioning that in Venezuela no rigorous rules have been created to regulate the characteristics of this type of sludge.

The analyzed sludge samples have a high degree of organic matter (140 g kg⁻¹), making it one of the most important beneficial contributions of residual sludge in

Los resultados muestran altas concentración de cromo en el lodo, que superan los valores normalmente permitidos en la legislación internacional, estos resultados ponen de manifiesto, que las concentraciones metálicas presentes en el lodo estudiado, indican su poca viabilidad para la aplicación en suelos agrícolas, ya que pueden causar efectos nocivos cuando los mismos se utilicen como suplemento (órgano mineral) para el acondicionamiento de suelos, lo cual pudiera afectar la calidad tanto del cultivo como del suelo, cabe destacar que en Venezuela no se han establecido las normas de rigor, para regular las características de este tipo de lodo.

Las muestras de lodo analizadas tienen un alto contenido de materia orgánica 140 g kg^{-1} , esto representa uno de los aportes benéficos más apreciables de lodos residuales en suelos agrícolas. La materia orgánica va a contrarrestar los efectos nocivos de la salinidad e incrementa la actividad de los microorganismos, que inducen a la mineralización de los nutrientes del lodo quedando disponibles a los cultivos. Los resultados concuerdan con los obtenidos por Diez *et al.* (1996); O'Brien *et al.* (2002); Zhang *et al.* (2004); Gallardo *et al.* (2007), quienes señalan que la aplicación de lodos está asociado a altos contenidos de materia orgánica y junto a otros parámetros químicos como pH y suma de bases, mejoran la disponibilidad de los nutrientes presentes en el suelo y en consecuencia el rendimiento potencial de los cultivos (Zhang *et al.*, 2004).

El K se encuentra en niveles altos en los lodos (180 mg kg^{-1}), por lo tanto según Mbila *et al.* (2003), no se requiere proporcionar fertilización adicional de este elemento cuando el nivel en los suelos es $> 0.6 \text{ mg kg}^{-1}$. La presencia de los cationes intercambiables como el potasio, sodio, calcio y magnesio, en altas concentraciones hace suponer que se pueda representar un problema de desbalance con otros elementos que se encuentran en el complejo de intercambio, como el fósforo y micro elementos, mientras que la presencia de sodio, el cual presentó valores superiores a $21\ 000 \text{ mg kg}^{-1}$, puede representar un alto riesgo de sodificación, lo cual afectaría la estructura del suelo de aplicarse el mismo como enmienda.

Los micronutrientes del Cuadro 2, se observan que el Fe y Zn contenidos en el lodo superan los rangos usuales en suelo, los cuales constituye un riesgo; ya que estos en concentraciones elevadas pueden provocar toxicidad a las plantas. Finalmente con respecto a la salinidad los valores presentes en el mismo fueron elevados, lo que reduce el crecimiento del vetiver hasta 50%, los valores de conductividad eléctrica del lodo fueron superiores a 7.11 dS m^{-1} , esto lo ubica como un desecho altamente salino, lo cual afecta el rendimiento de los cultivos.

agricultural lands. Organic matter will counteract the harmful effects of salinity and increases activity of microorganisms, which induce mineralization of the nutrients in the sludge and make them available to crops. The results agree with those obtained by Diez *et al.* (1996); O'Brien *et al.* (2002); Zhang *et al.* (2004); Gallardo *et al.* (2007), who point out that the application of sludge is related to high contents of organic matter, and together with other chemical parameters such as pH and sum of bases, improve the availability of the nutrients present in the soil and consequently, the potential yield of crops (Zhang *et al.*, 2004).

Levels of K are high in sludge (180 mg kg^{-1}), therefore, according to Mbila *et al.* (2003), no additional fertilizer with this element is required when levels in soil is $> 0.6 \text{ mg kg}^{-1}$. The presence of exchangeable cations such as potassium, sodium, calcium and magnesium in high concentrations leads to think that there could be unbalance problems with other elements in the exchange complex, such as phosphorus and microelements, while the presence of sodium, which presented values over $21\ 000 \text{ mg kg}^{-1}$, can represent a high risk of sodification, which would affect the soil structure should it be used as a soil amendment.

In regard to the micronutrients in Table 2, Fe and Zn in the sludge seem to surpass the usual rates in the soil, becoming a risk, since they can cause plant toxicity in high concentrations. Finally the salinity values in the sludge were high, which can reduce vetiver growth up to 50%; the electrical conductivity values of sludge were over 7.11 dS m^{-1} , making it a highly saline waste product which affects crop yields.

Fertilizer characterization

Table 3 shows the characterization of the organic fertilizer used in the essay.

The results of the characterization show that the organic fertilizer, from a nutritional perspective, presents attributes such as high content of organic matter, which favors nitrogen and phosphorous contributions to the plant, and adequate levels of essential micronutrients for plant growth. However, the high C/N relation presented by this substrate is a negative aspect, since it would hinder an adequate mineralization, hence the effects on chemical properties would not be reflected in the short term. Since

Caracterización del abono

En el Cuadro 3, se presenta la caracterización del abono orgánico empleado durante el ensayo.

Cuadro 3. Características del abono orgánico.

Table 3. Characteristics of the organic fertilizer.

pH (1:2)	CE (dS m ⁻¹)	MO (g kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)	Na (mg kg ⁻¹)	Fe (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	C/N
6.12	0.50	556.6	11.67	3.19	3.42	0.006	18 925	190.4	82.8

CE= conductividad eléctrica; MO= materia orgánica; C/N= relación carbono-nitrógeno.

Los resultados de la caracterización, reflejan que el abono orgánico desde el punto de vista nutricional presenta algunos atributos, como son: alto contenido de materia orgánica, lo cual favorecería los aportes de nitrógeno y fósforo a la planta, niveles adecuados de micronutrientes esenciales para el desarrollo de la planta. No obstante, la elevada relación C/N que presenta este sustrato es un aspecto negativo, dado que impediría una adecuada mineralización de la materia orgánica, por lo cual los efectos sobre las propiedades químicas no se reflejarían a corto plazo. La relación C/N del abono empleado fue sumamente alta, por lo que podría ocurrir una inmovilización neta, correspondiendo el abono usado a un material muy fresco, cuya relación C/N es 80.4 (Antiochia *et al.*, 2007).

Concentración de cromo en el lodo, 15 días después de la siembra

En la Figura 1, las letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). Se observa, que las concentraciones de cromo en todos los tratamientos disminuyeron en 30%, debido que la absorción por parte del vetiver fue afectado por la fijación de este elemento en la materia orgánica. Los valores de cromo fueron de 21 000 mg kg⁻¹ para el lodo sólo, 13 529 mg kg⁻¹ para el lodo + vetiver y 14 137 mg kg⁻¹ en el tratamiento de lodo + abono + vetiver, en todos los casos estos valores superaron ampliamente a los rangos establecido para el cromo en lodos residuales, por lo que su utilización con fines agrícolas no es recomendado.

Estos resultados coinciden con los reportados por Troung *et al.* (2001), quienes señalan que el vetiver es pobremente eficiente para la extracción de cromo y cobre, con menos de 0.1% después de 30 días, pero fue altamente eficiente

the relation C/N of the fertilizer used was extremely high, a total immobilization could occur, since the fertilizer is very fresh material, with a C/N relation of 80.4 (Antiochia *et al.*, 2007).

Concentration of chromium in the sludge, 15 days after planting

In Figure 1, different letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$). Chromium concentrations in all treatments fell by 30%, since absorption by the vetiver was affected by the fixation of this element in the organic matter. The values of chromium were 21 000 mg kg⁻¹ for the sludge only, 13 529 mg kg⁻¹ for sludge + vetiver and 14 137 mg kg⁻¹ in the sludge + fertilizer + vetiver treatment; in all cases, these values widely surpassed the ranges established for chromium in residuals sludge, which is why their use for agricultural purposes is not recommended.

These results correspond to those reported by Troung *et al.* (2001), who point out that vetiver efficiency of chrome and copper extraction is poor, with less than 0.1% after 30 days, but was highly efficient for lead and zinc absorption, which is why these scientists recommend that the vetiver plant can be considered a hyperaccumulator only for Pb and Zn.

Concentration of chromium in the sludge, 45 days after planting

By day 45, there was a reduction of 9% in chromium concentrations in the soils, in comparison to the values for day 15, and significant differences between treatment T1 and those in which vetiver was planted; also, an improvement was noticed in treatments combining sludge + fertilizer, showing that adding fertilizer improved physical conditions of the soil and helped reduce salinity, therefore, it reduced plant growth and hence chromium absorption.

These results agree with McBride (1994), who proved that vetiver plants are highly tolerant to these heavy metals, knowing that thresholds for chromium are 5 and 18 mg kg⁻¹, higher

para la absorción de plomo y zinc, por esas razones estos científicos, recomiendan que la planta de vetiver puede ser considerada como hiperacumulador únicamente para los metales Pb y Zn.

than the thresholds for most plants, the growth of which is affected when chromium contents are between 0.03 and 0.2 mg kg⁻¹. The levels found in this study surpass these thresholds by far, which can explain the slow plant growth.

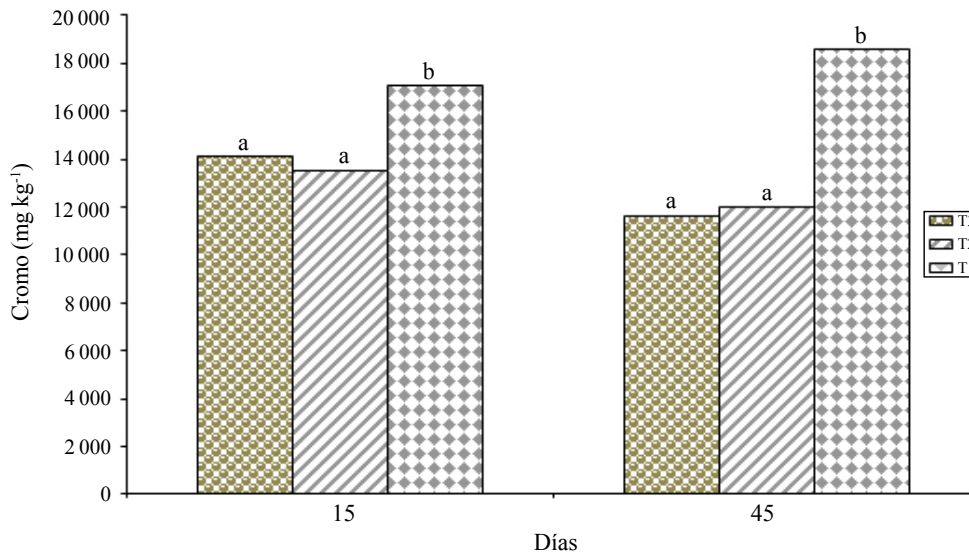


Figura 1. Concentración de cromo en el lodo y planta a 15 y 45 días después de la siembra.

Figure 1. Concentration of chrome in the sludge and plants 15 and 45 days after plantation.

Concentración de cromo en el lodo, 45 días después de la siembra

Para el día 45, se observó una disminución de 9% en las concentraciones de cromo en el suelo, en comparación a los valores reportados para el día 15, observándose diferencias significativas entre el tratamiento T1 con respecto a los tratamiento donde se sembró vetiver; asimismo, se evidenció una mejora en los tratamientos donde se combinó el lodo + abono, el cual muestra que la adición del abono mejoró las condiciones físicas del suelo y contribuyó a disminuir la salinidad; por lo tanto, favoreció el desarrollo de la planta y por ende la absorción de cromo.

Estos resultados coinciden con McBride (1994), este científico demostró que las plantas de vetiver son altamente tolerantes a estos metales pesados, conociendo que los umbrales para el cromo es de 5 y 18 mg kg⁻¹, los cuales son superiores a los umbrales reportados para la mayoría de las plantas, cuyo crecimiento se ve afectado cuando el contenido de cromo se ubica entre 0.03 y 0.2 mg kg⁻¹. Los niveles encontrados en este estudio superan abiertamente estos umbrales, lo cual puede explicar el lento desarrollo de las plantas.

Absorption of chromium by vetiver, 15 days after plantation

The results found in this experiment show that adverse conditions for plant growth (high concentrations of Cr and Na in sludge), considerably reduced the ability of vetiver to absorb chromium in the sludge, the levels of which fell from an initial concentration of 21 000 mg kg⁻¹ to 13 529 mg kg⁻¹ after planting the vetiver, followed by the vetiver + sludge + fertilizer treatment with 14 137 mg kg⁻¹ and finally, in the treatment without vetiver, chromium concentrations were above 17 000 mg kg⁻¹.

In Figure 2, different letters indicate significant differences in treatments with $p < 0.05$. Despite the 30% reduction in the concentration of chromium in the sludge, results show that the amount of chromium absorbed by the plant was of 3.49 mg in treatments with vetiver planted. This treatment displayed a concentration of 596.92 mg kg⁻¹ of chromium in foliar tissue, which is significantly higher than the one found in treatments with vetiver + sludge + fertilizer; the percentage of chromium absorbed was 1.11%, which accounts for a concentration of 190.3 mg kg⁻¹ of chromium in foliar tissue.

Absorción de cromo por vetiver, 15 días después de la siembra

Los resultados encontrados en el presente experimento, evidencian que las condiciones adversas para el desarrollo de las plantas (altas concentraciones de Cr y Na en el lodo), redujeron considerablemente la habilidad del vetiver para absorber el cromo presente en el lodo, reduciéndose los mismos de una concentración inicial de 21 000 mg kg⁻¹ a 13 529 mg kg⁻¹ luego de sembrado el vetiver, seguido del tratamiento vetiver + lodo + abono con 14 137 mg kg⁻¹ y finalmente en el tratamiento donde no se sembró el vetiver las concentraciones de cromo fueron superiores a 17000 mg kg⁻¹.

En la Figura 2, las letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos con $p < 0.05$. Se destaca que aunque la reducción de la concentración de cromo en el lodo fue 30%, los resultados señalan que la cantidad de cromo absorbido por la planta es de 3.49 mg en aquellos tratamientos en el cual se sembró el vetiver, observándose en este tratamiento una concentración de 596.92 mg kg⁻¹ de cromo en el tejido foliar, este valor es significativamente superior al encontrado en los tratamientos donde se sembró el vetiver + lodo + abono, el porcentaje de cromo absorbido fue de 1.11% el cual representa una concentración de 190.3 mg kg⁻¹ de cromo en el tejido foliar.

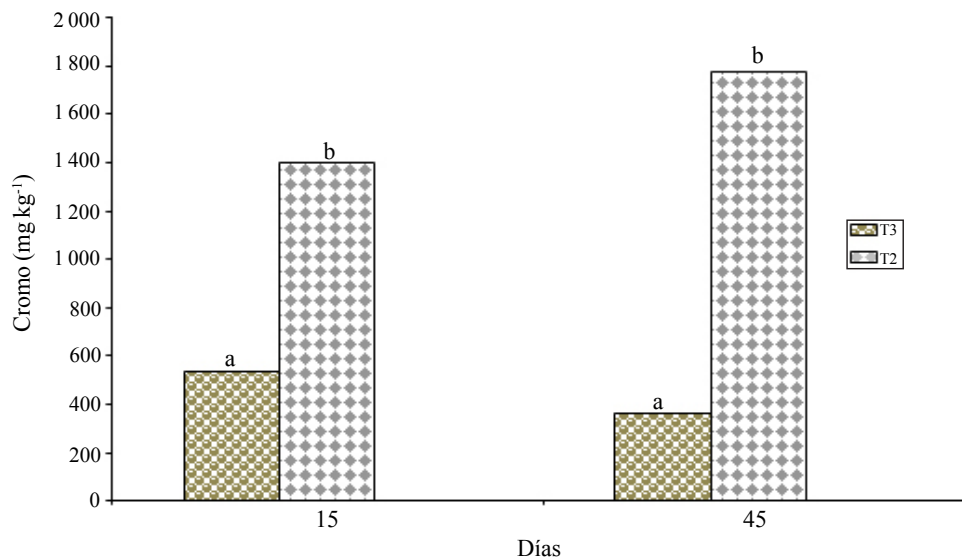


Figura 2. Cromo absorbido por la planta a 15 y 45 días después de la siembra.
Figure 2. Chromium absorbed by the plant 15 and 45 days after sowing.

Estos resultados pueden ser explicados por qué parte del cromo pudo ser fuertemente fijado en la materia orgánica del abono, lo cual impidió su absorción por parte de la planta. Por

These results can be explained by the fact that part of the chromium could be strongly fixated in the fertilizer's organic matter, preventing it from being absorbed by the plant. Therefore, the decrease in the extracted chromium could not be due to greater absorption by the vetiver, but to part of it being strongly attached to the organic matter in the sludge, impeding its quantification. In this sense Rivero (1999), points out that the absorption of heavy metals by the plant will be affected by the capacity of absorption of the biosolid used; for example, the presence of organic matter and iron oxides are very stable compounds and have high metal adsorption power; hence the organic fraction of the sludge can protect it so it can be absorbed, this explains the low amounts of chromium present in vetiver leaves.

Likewise, competition between sludge-metal bonds and chromium absorption by the plant increase when the initial amounts of sludge are applied to the soil; for most cases the adsorption sites of biosolids, dominant over the soil adsorption sites, and on the other hand, metal absorption by the plant does not increase in response to the biosolid; it is therefore expected that larger amounts of biosolids do not imply a greater degree of absorption of heavy metals by the plant.

Adicionalmente, pH, CIC, and the redox potential can regulate the absorption of heavy metals. For example, pH is very important, since the absorption of heavy metals is low when

lo tanto, la disminución del cromo extraído no puede ser atribuida a una mayor absorción por parte del vetiver, sino que parte del mismo quedó fuertemente ligado a la materia orgánica presente en el lodo, lo cual impidió su cuantificación. En este sentido Rivero (1999), señala que la absorción de los metales pesados por la planta va ser afectado por la capacidad de absorción del biosólido empleado; por ejemplo, la presencia de materia orgánica y óxidos de hierro, son compuestos muy estables y exhiben una alto poder de adsorción con el metal; por lo tanto, la fracción orgánica del lodo, puede proveer una protección a éste para que sea absorbido, de allí se explica las bajas cantidades de cromo presente en la hojas de vetiver.

Por otro lado, se ha determinado que la competencia entre los enlaces lodo-metal y la absorción del cromo por la planta, se incrementa cuando las cantidades iniciales del lodo son aplicadas al suelo, para la mayoría de los casos los sitios de adsorción del biosólidos dominante sobre los sitios de absorción del suelo, por otro lado la absorción de metales por parte de la planta, no se incrementa en respuesta a la aplicación del biosólido; por lo tanto, es de esperar que mayores cantidades de biosólidos no implican una mayor tasa de absorción de los metales pesados por la planta.

Adicionalmente, el pH, CIC, y el potencial redox pueden regular la absorción de metales pesados. Por ejemplo, el pH es muy importante ya que la absorción de metales pesados es baja cuando el pH está cerca de 6.5 a 7, en este caso el valor reportado para el lodo analizado fue de 7.9; esta reducción es debida a que un incremento en el pH causa la precipitación de los hidróxidos insolubles, carbonatos y complejos orgánicos. La capacidad de intercambio catiónico, está relacionada directamente con la capacidad de absorción de los metales, valores altos de CIC, indican mayores sitios de intercambio, el cual mantendrán retenido el metal, sin que el mismo pueda ser absorbido por las plantas (Pang *et al.*, 2003).

Absorción de cromo por la planta, 45 días después de la siembra

Los resultados muestran un incremento significativo en el porcentaje de cromo absorbido por la planta, en relación a lo reportado para el día 15, con valores de 1 697.25 mg kg⁻¹ en el tratamiento donde se sembró vetiver + lodo + abono y 1 542.85 mg kg⁻¹ para el tratamiento con vetiver + lodo, esto significa un incremento considerable en el porcentaje de absorción, el cual se ubicaba en 3%, para el tratamiento lodo + vetiver, lográndose incrementar a 9.02%, mientras que en el tratamiento de lodo + abono + vetiver, este incremento fue de 1.1 a 9.9%.

the pH is near 6.5 or 7, in which case the value reported for sludge was 7.9; this was due to an increase in pH causing the precipitation of insoluble hydroxides, carbonates and organic complexes. The capacity of cationic exchange is directly related to the capacity of absorption of metals. High CIC values indicate more sites of exchange, which they will keep by retaining the metal, without it being absorbed by the plants (Pang *et al.*, 2003).

Absorption of chromium by the plant, 45 days after sowing

Results show a significant increase in the percentage of chromium absorbed by the plant since day 15, with values of 1 697.25 mg kg⁻¹ in the treatment with vetiver + sludge + fertilizer, and 1 542.85 mg kg⁻¹ for the treatment with vetiver + sludge, a considerable increase in the percentage of absorption, which was 3%, for the treatment with sludge + vetiver, and was increased by 9.02%, while in the sludge + fertilizer + vetiver treatment, this increase was of 1.1 to 9.9%.

The increase in the absorption rate of chromium after day 30 could be due to greater plant development; after this moment, improvement in the physical environment for the growth of vetiver and due to the mineralization of the nutrients in the organic matter, since the latter mineralizes slowly, due to the high C/N relation, and to the vegetative development of vetiver in the first 15 days was affected by high salinity, which dropped considerably when fertilizer was mixed with sludge.

Chromium absorption in conformity with the plant organ

In Figure 3, different letters show significant differences in treatments, taking into account that the highest amount of chromium in the root was found in the treatment with sludge + fertilizer + vetiver, with a chromium value of 546.7 mg kg⁻¹ in comparison to the 474.18 mg kg⁻¹ in the treatment with sludge only. Results were similar to those reported by McBride (1994), who found that the concentration of heavy metals in roots increased when the concentration of heavy metals was greater, and those 120 days after sowing, the amount of heavy metals in roots was higher than in the stem.

On the contrary, chromium concentration in the stem in Figure 3 shows that the most chromium found was in the treatment with sludge + fertilizer + vetiver, with an

El incremento en la tasa de absorción de cromo por vetiver después del día 30, pudo deberse a un mayor desarrollo vegetativo de la planta, a partir de este momento el mejoramiento en las condiciones del medio físico para el desarrollo del vetiver y por la mineralización de los nutrientes que están en la materia orgánica, dado que esta es de lenta mineralización, debido a la alta relación C/N y que los primeros 15 días el desarrollo vegetativo del vetiver fue afectado por los altos valores de salinidad, los cuales se redujeron considerablemente cuando se mezcló el abono con el lodo.

Absorción de cromo en función del órgano de la planta

Los resultados presentados en la Figura 3, las letras distintas muestran diferencias significativas entre los tratamientos, notándose que la mayor cantidad de cromo a nivel de la raíz fue encontrada en el tratamiento donde se combinó el lodo + abono + vetiver, con un valor de 546.7 mg kg⁻¹ de cromo en comparación al reportado en el tratamiento con lodo sólo, el cual presentó un valor de 474.18 mg kg⁻¹ de cromo. Los resultados fueron similares a los reportados por McBride (1994), quien encontró que la concentración de metales pesados en las raíces, se incrementó cuando la cantidad de metales pesados fue mayor, encontrándose que a los 120 días después de la siembra, la cantidad de metales pesados en las raíces fue mayor que en el tallo.

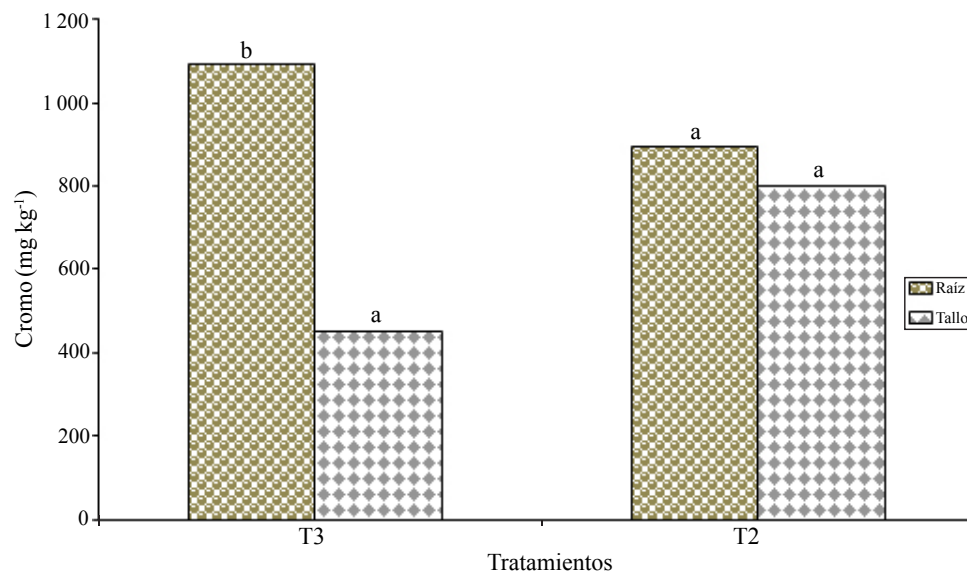


Figura 3. Concentración de cromo en raíz y tallo de la planta a 120 días después de la siembra.
Figure 3. Concentration of chromium in the roots and stem of the plant 120 days after sowing.

Por el contrario, la concentración de cromo a nivel del tallo en la Figura 3, muestran que la mayor cantidad de cromo fue encontrada en el tratamiento donde se aplicó el lodo +

amount of chromium of 338.65 mg kg⁻¹, in comparison to the treatment with sludge + vetiver, which had 224.83 mg kg⁻¹ of chromium.

Some authors have stated that the root is the main entry for heavy metals into the plant. In this sense, Reyna *et al.* (2009) indicate that chromium, regardless of its oxidation state in the solution (III) or (VI), is stored in larger proportions in the root, reaching concentrations of over 3 000 mg kg⁻¹ (dry base). The accumulation in the root accounts for an average of 90% of the total, while the remaining 10% is distributed in the stem and leaves.

The higher concentration of chromium in the root is due to the diffusion in the medium, by means of a massive flow and cationic exchange. Roots have negative charges in their cells, due mostly to the presence of carboxyl groups from peptic acid. The negative charges of the rhizodermis cells interact with the positive charges of the heavy metals present in the soil. It has been recently proven that part of the flow of heavy metals can remain in the cell wall, due to the structures of lignin and cellulose (Navarro-Aviño *et al.*, 2007).

On the other hand, Mbila *et al.* (2003), pointed out that the exudates or organic compounds released by the roots, with both low and high molecular weights, can

contribute to eliminating heavy metals. Those with low molecular weights are released in favor of the concentration gradient, and the ones with high molecular

abono + vetiver con un valor de 338.65 mg kg⁻¹ de cromo, en comparación al reportado en el tratamiento con lodo + vetiver, el cual presentó un valor de 224.83 mg kg⁻¹ de cromo.

Algunos autores han reportado que la raíz constituye el tejido de entrada principal de metales pesados en la planta. En tal sentido Reyna *et al.* (2009) señalan que el cromo, independientemente de su estado de oxidación en la solución (III) o (VI), se almacena en mayor proporción en la raíz, alcanzando concentraciones superiores a los 3 000 mg kg⁻¹ (base seca) en esta zona. La acumulación en la raíz representa en promedio 90% del total, mientras que 10% restante se distribuye entre el tallo y las hojas.

La mayor concentración de cromo en la raíz se debe al proceso de difusión en el medio, mediante un flujo masivo y por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido en gran medida a la presencia de grupos carboxilo del ácido péptico. Las cargas negativas de las células rizodermis interaccionan con las cargas positivas de los metales pesados presentes en el suelo, se ha demostrado recientemente que parte del flujo de metales pesados pueden quedar retenido en la pared celular por la estructura de lignina y celulosa (Navarro-Aviñó *et al.*, 2007).

Por otro lado, Mbila *et al.* (2003), señalaron que los exudados o compuestos orgánicos liberados por la raíces de la planta, tanto de bajo y alto peso molecular, pueden contribuir a la eliminación de metales pesados. Los de bajo peso molecular se liberan a favor del gradiente de concentración, y los de alto peso molecular se liberan por mecanismos de transporte activo o lisis celular. Los exudados facilitan la disponibilidad de los metales. Por ejemplo, se ha observado que los exudados favorecen la absorción de Fe en suelos deficientes en el mismo. La exudación de mucílagos que forman una capa externa a la raíz (mucigel), también favorece la complejidad de metales pesados.

Este experimento demuestra que a pesar de la cantidad de cromo absorbida tanto a nivel de tallo como de raíz es baja, en relación a las cantidades iniciales presentes en el lodo, lo cual imposibilita su uso dado que los mismos superan los umbrales máximos permitidos. La cantidad absorbida está muy por encima de los valores reportados mundialmente en distintos ensayos (Cuadro 4), lo que permite vislumbrar un uso promisorio del vetiver como planta fitorremediadora, dada la capacidad de acumular metales pesados y su adaptación a condiciones extremas (Rodríguez *et al.*, 2001).

weight are released by active transport mechanisms, or cell lysis. The exudates contribute to metal availability. For example, exudates have been noticed to help Fe absorption in soils that lack it. The exudation of mucilage that form a layer outside the root (mucigel), also favors the complexity of heavy metals.

This experiment shows that despite the amount of chromium absorbed notch in the stem and the root is low, in relation to the initial amounts present in sludge, which makes its use impossible given that they surpass the maximum thresholds permitted. The absorbed amount is very much above the values reported worldwide in different tests (Table 4), which helps to view a promising use of vetiver as a phyto-remediating plant, given its capacity to accumulate heavy metals and its adaptation to extreme conditions (Rodríguez *et al.*, 2001).

Authors such as Xia *et al.* (2000); Troung and Baker (1998); Troung *et al.* (2000), have proven the advantages of vetiver for the recovery of areas polluted by heavy metals given to this plant's power of hyperaccumulation, such as tolerance to heavy metals, which are due to physiological mechanisms of the vetiver that helps complexity these heavy metals through the rhizodermis. Likewise, this plant has several competitive advantages over other hyperaccumulating plants, for instance, tolerance to extreme weather conditions and adaptation to salty and extremely acid soils, helping the plant remain unaffected by edaphoclimatic conditions, and are used unrestrictedly in different geographic areas.

CONCLUSIONS

The treatment with sludge + fertilizer in a 1:1 proportion, was the most efficient in chromium removal by vetiver plants, given that when physical conditions improve, they provide nutrients and reduce salinity, enhancing plant growth and therefore chromium absorption.

Despite chromium removal in sludge being considered low in relation to initial values (9%), it widely surpasses the values reported in literature that indicate that vetiver is not enough for its removal.

Chromium absorption in the sludge + vetiver treatment was higher in the stem, while in the case that also included fertilizer, it was concentrated in the rhizosphere.

Cuadro 4. Valores promedio de absorción de vetiver y umbrales de acumulación de cromo para el crecimiento de la planta.

Table 4. Average values of vetiver absorption and chromium accumulation thresholds for plant growth.

Concentración de cromo en el suelo (mg kg ⁻¹)	Absorción parte aérea (mg kg ⁻¹)	Absorción en raíces (mg kg ⁻¹)	Absorbido en raíces (%)	Absorbido parte aérea (%)	Umbrales en suelo (mg kg ⁻¹)
50	4	400	1	1	200-600
200	5	1 170	<1	<1	sd
600	18	1 650	<1	<1	sd

sd= sin dato.

Autores como Xia *et al.* (2000); Troung y Baker (1998); Troung *et al.* (2000), han demostrado las ventajas del vetiver para la recuperación de áreas contaminadas con metales pesados, dado al poder hiperacumulador que tiene esta planta, como la tolerancia a los metales pesados, los cuales se deben a mecanismos fisiológicos del vetiver que permite acomplejar estos metales pesados a nivel de la rizósfera. Asimismo, esta planta presenta ventajas competitivas con respecto a otras plantas hiperacumuladoras como son: tolerancia a condiciones climáticas extremas y adaptación tanto a condiciones de suelo de extrema acidez como suelos salinos, lo cual permite que la planta no sea afectada por las condiciones edafoclimáticas y pueda ser empleada sin restricciones en diferentes áreas geográficas.

CONCLUSIONES

El tratamiento donde se aplicó el lodo + abono en proporción 1:1, fue el más eficiente en la remoción del cromo por la planta de vetiver, dado que al mejorarse las condiciones físicas, aportan nutrientes y disminuye los valores de salinidad que favorecen el desarrollo de la planta y por ello la absorción del cromo.

La remoción del cromo en el lodo a pesar de ser considerada baja en relación a los valores iniciales (9%), esta supera ampliamente los valores reportados en la literatura, que señalan que el vetiver no es eficiente en la remoción de éste.

La absorción de cromo en el tratamiento de lodo + vetiver fue mayor a nivel del tallo, mientras que en el caso donde se adicionó abono, la misma se concentró a nivel de la rizósfera.

Apesar de la reducción en los valores de cromo, los tratamientos estudiados aún superan ampliamente los niveles de cromo permitidos en lodos residuales; lo cual implica, su inviabilidad para ser empleados como abonos en sistemas agrícolas.

Despite the fall in chromium values, the treatments studied still surpass widely the chromium levels permitted in residuals sludge, which implies its inviability for use as fertilizers in agricultural systems.

End of the English version



LITERATURA CITADA

- Alvarado, S. y Guédez, M. 2003. Remoción de arsénico por fitorremediación con las especies lirio de agua (*Eichhornia Crassipes*) y lenteja de agua (*Lemna Minor*). UNEXPO. Barquisimeto, Venezuela.
- Álvarez, S. G.; Maldonado, M.; Gerth, A. y Kuschik, P. 2004. Caracterización de agua residual de curtiduría y estudio del lirio acuático en la recuperación de cromo. La Serena, Chile. Información tecnológica. 15(3):75-80.
- Antiochia, R.; Campanella, L.; Ghezzi, P. and Movassaghi, K. 2007. The use of vetiver for remediation of heavy metal soil contamination. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 388(4):947-956.
- Bradford, C.; Page, A.; Lund, L. and Olmstead, W. 1975. Trace elements concentrations of sewage treatment plant effluents and sludges: their interactions with soil and uptake by plants. J. Environ. Qual. 4:123-127.
- De Souza, M.; Zhu, Y.; Zayed, A.; Quian, J. and Terry, N. 1999. Phytoaccumulation of trace elements by wetland plants: II Water hyacinth. J. Environ. Qual. 28:339-344.
- Diez, M. C.; Concha, M. I. and Gallardo, F. 1996. Acid soil supplementation with sewage sludge for cereal growth. IV International symposium on plant-soil interactions at low pH. Belo Horizonte, Brazil.

- Gallardo, F.; Mora, M. L. and Diez, M. C. 2007. Kraft mill sludge to improve vegetal production in chilean andisol. *Water Science & Technology*. 55(6):31-37.
- McBride, M. B. 1994. *Environmental chemistry of Sils*. Oxford University Press. 421 p.
- Mbila, M.; Thompson, M.; Mbagwu, J. and Laird, D. 2003. Morphological and chemical properties of selected sludge amended. Nigerian soils. *Soil Sci.* 168:660-669.
- Navarro-Aviñó, J. P.; Aguilar, A. y López-Moya, J. R. 2007. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas*. 16(2):10-25.
- O'Brien, T. A.; Herbert, S. J. and Barker, A. V. 2002. Growth of corn in varying mixtures of paper mill sludge and soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 33(3):635-646.
- Pang, J.; Chan, G.; Zhang, S.; Liang, J. and Wong, M. H. 2003. Physiological aspects of vetiver grass for rehabilitation in abandoned metalliferous mine wastes. *Chemosphere*. 52:1559-1570.
- Rivero, C. 1999. *Materia orgánica del suelo*. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay. *Revista Alcance*. Núm. 57. 211 p.
- Roongtanakiat, N. and Chairroj, P. 2001. Uptake potential of some heavy metals by vetiver grass. *Kasetsart. J. Nat. Sci.* 35:46-50.
- Rodríguez, O.; Luque, O. O.; Silva, O. O. y Tamayo, G. 2001. Boletín vetiver. Publicación divulgativa de la red latinoamericana del vetiver. RLAV. 24 p.
- Truong, P. N. and Baker, D. 1998. Vetiver grass for the stabilization and rehabilitation of acid sulfate soils. *In: Proceedings of second national conference on acid sulfate soils*. Coffs Harbour. 196-198 pp.
- Truong, P. N.; Mason, F.; Waters, D. and Moody, P. 2000. Application of vetiver grass technology in off-site pollution control. I Trapping agrochemicals and nutrients in agricultural lands. *Proc. second intern. Vetiver conf. Thailand*.
- Truong, P. N. and Hartm, B. 2001. Vetiver system of wastewater treatment. Pacific rim vetiver network. Office of the royal development projects board. Bangkok. Technical bulletin. Num. 201.
- Walkley, A. and Black, T. A. 1934. An examination of the method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *So. Sci. Soc. Am. J.* 68:1403-1409.
- Xia, H. P.; Liu, S. and Ao, H. 2000. Study on purification and uptake of vetiver grass to garbage leachate. *Proc. second intern. Vetiver conf. Thailand*.
- Zhang, S.; Wang, S.; Shang, X. and Mu, H. 2004. Influences of lignin from paper mill sludge on soil properties and metal accumulation in wheat. *Biology and Fertility of Soils*. 40:237-242.