



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA  
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA

## PROYECTO FIN DE CARRERA

*“EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DEL SUELO, DISPONIBILIDAD DE METALES PESADOS Y VEGETACIÓN EN UN DEPÓSITO MINERO DE LA SIERRA MINERA DE CARTAGENA-LA UNIÓN TRAS SU REHABILITACIÓN MEDIANTE FITOESTABILIZACIÓN ASISTIDA”*

**AUTORA:** Clara Sánchez Villaluenga

**DIRECTORES:** Ángel Faz Cano

Raúl Zornoza Belmonte

**TITULACIÓN:** Ingeniero Agrónomo

**CONVOCATORIA:** junio de 2015

*A mi familia.*

## ***Agradecimientos***

En primer lugar quisiera agradecer a mis directores, Ángel Faz y Raúl Zornoza, el haberme dado la oportunidad de llevar a cabo este Proyecto, y especialmente a Raúl por su ayuda y paciencia a lo largo de la realización del mismo.

También quisiera agradecer a las personas que pertenecen o han pertenecido al Grupo de Gestión, Aprovechamiento y Recuperación de Suelos y Agua (GARSA), la ayuda prestada durante mi estancia en el laboratorio (María, Silvia, Melisa, M<sup>a</sup> Ángeles, Rosa, Asuman e Ibrahim).

A Virginia y Paqui, con las que he compartido muy buenos momentos y me han ayudado cada vez que lo he necesitado.

Por último, quisiera dar las gracias a mi familia: a mis padres, por su apoyo, su esfuerzo y su confianza y a Juanma, por su apoyo incondicional.

Gracias a todos.

# ÍNDICE

---

<b>1</b>	<b>OBJETIVOS E HIPÓTESIS INICIAL.</b>	<b>1</b>
1.1	OBJETIVOS GENERALES.	1
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	1
1.3	HIPÓTESIS INICIAL.	2
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN.</b>	<b>4</b>
2.1	ANTECEDENTES.	4
2.2	IMPACTOS AMBIENTALES DE LA PRESENCIA DE DEPÓSITOS DE ESTÉRILES.	9
2.3	ESTRATEGIAS DE REHABILITACIÓN DE DEPÓSITOS MINEROS.	13
2.3.1	Tratamientos físico-químicos.	14
2.3.2	Tratamientos térmicos.	16
2.3.3	Tratamientos biológicos.	16
2.3.4	Otros tratamientos.	18
2.4	APLICACIÓN DE ENMIENDAS.	19
2.4.1	Aplicación de lodo de mármol como enmienda inorgánica.	19
2.4.2	Aplicación de enmiendas orgánicas.	25
<b>3</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.</b>	<b>32</b>
3.1	ÁREA DE ESTUDIO.	32
3.2	DISEÑO EXPERIMENTAL	33
3.3	MÉTODOS DE ANÁLISIS.	41
3.3.1	Análisis físico-químicos del suelo.	41
3.3.2	Análisis bioquímicos del suelo.	42
3.3.3	Análisis de planta.	43
3.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	44
<b>4</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>45</b>
4.1	PARÁMETROS FÍSICOS DEL SUELO.	45

4.1.1	Estabilidad de agregados. ....	45
4.1.2	Densidad aparente. ....	47
4.2	PARÁMETROS QUÍMICOS DEL SUELO. ....	49
4.2.1	pH.....	49
4.2.2	Conductividad eléctrica.....	51
4.2.3	Carbono orgánico. ....	52
4.2.4	Carbono inorgánico. ....	55
4.2.5	Nitrógeno total. ....	56
4.2.6	Capacidad de intercambio catiónico. ....	58
4.2.7	Fósforo asimilable.....	61
4.2.8	Potasio intercambiable. ....	65
4.2.9	Concentración de metales pesados y As en el suelo. ....	66
4.3	PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DEL SUELO. ....	83
4.3.1	Respiración edáfica basal.....	83
4.3.2	Actividad $\beta$ - glucosidasa. ....	85
4.3.3	Actividad ureasa. ....	86
4.3.4	Actividad arilsulfatasa. ....	88
4.4	EVOLUCIÓN DE LA VEGETACIÓN. ....	89
4.4.1	Cobertura vegetal. ....	89
4.4.2	Riqueza vegetal. ....	90
4.4.3	Índice de biodiversidad. ....	96
4.4.4	Contenido en metales.....	98
4.4.5	Factor de bioacumulación.....	106
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES.</b> ....	<b>112</b>
<b>6</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.</b> ....	<b>114</b>

## TABLAS.

Tabla 1. Ventajas e inconvenientes de las técnicas de remediación in situ y ex situ (Adaptado de Volke y Velasco, 2002).....	14
Tabla 2. Volumen anual de estiércol de los distintos tipos de ganado porcino y su contenido en nitrógeno (RD 324/2000).....	31
Tabla 3. Principales características del purín de cerdo bruto (PC), del estiércol porcino (EP) y del lodo de mármol (LM) empleados como enmiendas (<l.d.: inferior al límite de detección). (Zornoza et al., 2013b).....	36
Tabla 4. Riqueza vegetal treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .....	91
Tabla 5. Referencias adicionales de las especies encontradas en la balsa de residuos de la mina Santa Antonieta, y de otras especies tolerantes a metales pesados.....	94
Tabla 6. Nº de individuos ha <sup>-1</sup> de las especies encontradas en la balsa de residuos de la mina Santa Antonieta, treinta meses después de la aplicación de enmiendas.....	97
Tabla 7. Media (error típico) (mg kg <sup>-1</sup> ) de la concentración de metales y As en raíz y parte aérea en las especies sembradas/plantadas en Santa Antonieta entre marzo y abril de 2012, y recolectadas en enero de 2014.....	99

## ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Flotación de la mena (Cortés y Guillén, 2010). .....	7
Ilustración 2. Esquema de una corta (Herrera, 2006).....	7
Ilustración 3. Sierra Minera Cartagena- La Unión: Minas Inocente y Nelson (izquierda); Corta Brunita (derecha). Fuente: Balsas,P. (2008); recuperado de <a href="http://www.panoramio.com/">http://www.panoramio.com/</a> .....	8
Ilustración 4. Castillete del Cabezo Rajao. Fuente: Fundación Sierra Minera. Centro de Interpretación de la mina Las Matildes (2007); recuperado de <a href="http://www.fundacionsierraminera.org/">http://www.fundacionsierraminera.org/</a> .....	13
Ilustración 5. Chimenea en la Rambla del Avenque. Fuente: Fundación Sierra Minera. Centro de Interpretación de la mina Las Matildes (2007); recuperado de <a href="http://www.fundacionsierraminera.org/">http://www.fundacionsierraminera.org/</a> .....	13
Ilustración 6. Esquema de los mecanismos de fitoestabilización (Mendez y Maier, 2008). .....	18
Ilustración 7. Placas resultantes del corte mediante telar. Recuperado de <a href="http://www.sogestone.com">http://www.sogestone.com</a> . .....	22
Ilustración 8. Máquina de corte con hilo diamantado. Recuperado de <a href="http://www.directindustry.es">www.directindustry.es</a> .....	23
Ilustración 9. Cortabloques de mármol. Recuperado de <a href="http://www.amsgroupnet.com">http://www.amsgroupnet.com</a> . .....	24
Ilustración 10. Acciones de regulación que ejerce la MO en los procesos de biorremediación de suelos contaminados por metales pesados (Park et al., 2011). .....	28

Ilustración 11. Área de estudio.....	33
Ilustración 12. Localización del depósito minero Santa Antonieta en el Distrito Minero de Cartagena-La Unión .....	33
Ilustración 13. Santa Antonieta en el año 2007 (izda.) y en el año2014 (dcha.). .....	36
Ilustración 14. Muestreo inicial (noviembre de 2010) .....	37
Ilustración 15. Nivelación del terreno (marzo de 2011). .....	37
Ilustración 16. Aplicación de purín de cerdo.....	38
Ilustración 17. Aplicación de estiércol porcino (noviembre de 2011).....	38
Ilustración 18. Aplicación de lodo de mármol (julio de 2011).....	39
Ilustración 19. Plantación (marzo-abril de 2012) .....	39
Ilustración 20. Muestreo enero 2014: suelo (izda.); planta (dcha.).....	40
Ilustración 21. Santa Antonieta en el año 2011 (izda.) y en enero de 2014 (dcha.) .....	40
Ilustración 22. Cobertura vegetal en enero de 2014.....	41



## FIGURAS

Figura 1. Composición de la materia orgánica del suelo (Krull et al., 2004)..... 26

Figura 2. Estabilidad de agregados en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .... 45

Figura 3. Densidad aparente en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .... 48

Figura 4. pH en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .... 49

Figura 5. Conductividad eléctrica (CE) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .... 51

Figura 6. Concentración media carbono orgánico (CO) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .... 53

Figura 7. Concentración media de carbono inorgánico (CI) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .... 55

Figura 8. Concentración media de nitrógeno total (NT) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .... 56

Figura 9. Capacidad de intercambio catiónico (CIC) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .... 59

Figura 10. Concentración media de fósforo asimilable (P) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. .... 61

Figura 11. Concentración de fósforo soluble en el suelo, en función de la cantidad de estiércol añadido al suelo (El-Baruni y Olsen, 1979). .....	62
Figura 12. Formas en las que se encuentra el P en el suelo (Brady, 1984) .....	64
Figura 13. Concentración media de potasio intercambiable (K) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas. ....	65
Figura 14. Concentración media de metales/metaloides solubles (H <sub>2</sub> O) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.....	68
Figura 15. Concentración media de metales/metaloides intercambiables (CaCl <sub>2</sub> ) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.....	69
Figura 16. Concentración media de metales/metaloides biodisponibles (DTPA) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.....	80
Figura 17. Respiración edáfica basal (RB) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.....	83
Figura 18. Actividad β- glucosidasa en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.. .....	85
Figura 19. Actividad ureasa en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.. .....	87

Figura 20. Actividad arilsulfatasa en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.. .....	88
Figura 21. FB del As en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.....	107
Figura 22. FB del Cd en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.....	107
Figura 23. FB del Cu en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.....	108
Figura 24. FB del Pb en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.....	108
Figura 25. FB del Zn en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.....	109

## ECUACIONES

Ecuación 1. Reacciones de alteración supergénica de sulfuros (González et al., 2011; Martínez y Pérez, 2007). .....	10
Ecuación 2. Reacción de los metales pesados con los carbonatos (Martínez y Pérez, 2007).....	20
Ecuación 3. Disociación de un grupo carboxílico de los ácidos húmicos al incrementar el pH del suelo (Jordán, 2005).....	27
Ecuación 4. Índice de Shannon-Weaver (Shannon y Weaver, 1963).....	43
Ecuación 5. Factor de bioacumulación.....	43
Ecuación 6. Disolución de calcita en el suelo (Zanuzzi et al., 2009). .....	50
Ecuación 7. Reacción de formación de cristales de yeso (Fernández-Caliani y Barba-Brioso, 2010). .....	52
Ecuación 8. Formación de hidroxifosfatos insolubles. (Brady, 1984). .....	63
Ecuación 9. Precipitación de Cu en las superficie de carbonatos (Ponizovsky et al., 2007). .....	76
Ecuación 10. Reacción de hidrólisis de la urea a CO <sub>2</sub> , catalizada por la enzima ureasa (Borie y Fuentealba, 1982). .....	86
Ecuación 11. Reacción de hidrólisis de éster sulfatos orgánicos a sulfato, catalizada por la enzima arilsulfatasa (Medina, 2012).....	88

## 1 OBJETIVOS E HIPÓTESIS INICIAL.

---

### 1.1 OBJETIVOS GENERALES.

Este proyecto se enmarca dentro del proyecto europeo LIFE+ *Post-mined polluted landscapes reclamation by means of valorization of different residues* (Mipolare), cuyo objetivo principal es evaluar, demostrar y difundir una alternativa sostenible para rehabilitar depósitos mineros de la Región de Murcia mediante la aplicación de la fitoestabilización asistida con residuos industriales y ganaderos.

Concretamente, el objetivo general de este proyecto fin de carrera es estudiar la evolución de la calidad del suelo, la disponibilidad de metales pesados y metaloides y el desarrollo de la vegetación en el depósito de lodos de flotación de la mina Santa Antonieta (Distrito Minero de Cartagena-La Unión), rehabilitado mediante la aplicación de enmiendas en el año 2011 y plantación/siembra de especies autóctonas con potencial fitoestabilizador en primavera de 2012. Esto se ha llevado a cabo mediante el análisis de determinadas propiedades físicas, químicas y bioquímicas del suelo, incluyendo las fracciones solubles y biodisponibles de diferentes metales pesados y metaloides, así como la cobertura y acumulación de metales y metaloides por parte de la vegetación introducida. Además, se pretende conocer la eficiencia fitoestabilizadora de las especies empleadas, para evaluar si existe riesgo de entrada de metales pesados en la cadena trófica.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

El objetivo general de este proyecto se va a conseguir mediante el desarrollo de los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar si la estrategia de rehabilitación empleada ha reducido la movilidad y disponibilidad de metales pesados y metaloides en el suelo.
- Evaluar si la adición de enmiendas mantiene a medio plazo el valor de pH en niveles cercanos a la neutralidad.
- Evaluar si la estrategia empleada ha mejorado la calidad del suelo, lo que supone un aumento del contenido de materia orgánica y nutrientes, incremento de la estabilidad agregados y reducción de la salinidad.
- Evaluar si la fitoestabilización asistida ha incrementado la biomasa y actividad microbiana, activando así los ciclos biogeoquímicos del suelo.
- Estudiar el incremento en la cobertura y riqueza vegetal.
- Conseguir, mediante la fitoestabilización asistida, una baja acumulación de elementos traza en la parte aérea de la vegetación para evitar su entrada y transferencia en la cadena trófica.
- Evaluar si se ha creado un ecosistema autosostenible capaz de mantener la calidad del suelo, las poblaciones de microorganismos y su actividad, y una comunidad vegetal.

### **1.3 HIPÓTESIS INICIAL.**

La hipótesis de partida de este proyecto es que la fitoestabilización asistida mediante el uso de especies vegetales autóctonas y la adición de tres enmiendas como el purín de cerdo, el estiércol de cerdo y el residuo de mármol tiene la capacidad de mejorar las deficientes propiedades inherentes a los suelos afectados por la minería (fundamentalmente escasez de materia orgánica, nutrientes y ausencia de estructura edáfica) y de reducir la biodisponibilidad de los metales pesados y metaloides. De este modo se puede crear un medio favorable para el establecimiento de una comunidad vegetal. Además, se reducen los riesgos asociados a las balsas de estériles mineros, tras el descenso en las tasas de erosión de suelo, debido a la mejora de

## **OBJETIVOS E HIPÓTESIS INICIAL.**

---

estructura edáfica y la colonización de la vegetación, y la inmovilización de metales pesados y metaloides tóxicos.

## 2 INTRODUCCIÓN.

---

### 2.1 ANTECEDENTES.

La Sierra Minera de Cartagena-La Unión es una formación montañosa situada en el extremo suroriental de las Cordilleras Béticas. Se extiende en dirección Este-Oeste a lo largo de 26 km de costa entre el Mar Mediterráneo y la laguna del Mar Menor, situada en los términos municipales de Cartagena y La Unión. La Sierra Minera, con una extensión de 50 km<sup>2</sup>, constituye el mayor yacimiento de Zn y Pb de las Cordilleras Béticas y uno de los más importantes de la Península Ibérica (Manteca y Ovejero, 1992).

Esta concentración de metales está asociada a la importante actividad volcánica que tuvo lugar en el sureste español durante el Mioceno Superior. La alteración de las rocas calco-alcalinopotásicas (andesitas, dacitas y riocitas) dio lugar a la precipitación de los minerales en las fallas y cavidades de la Sierra (Manteca y Ovejero, 1992; Martínez y Pérez, 2007).

Manteca y Ovejero (1992) clasificaron las mineralizaciones de la Sierra Minera en función de su morfología en:

- Mantos: el basamento de la Sierra de Cartagena está estructurado en una serie de mantos de cabalgamiento superpuesto: el complejo Alpujárride (primer manto) y el complejo Nevado-Filábride (segundo manto), generados entre el Paleozoico y el Mesozoico. En ambos mantos podemos encontrar dos grupos de mineralizaciones que se diferencian en su origen: greenalita-magnetita-sulfuros-carbonatos-sílice (manto de silicatos); clorita-sulfuros-carbonatos-sílice (manto piritoso). Las mineralizaciones tipo manto han sido las más explotadas en la Sierra.
- Diseminaciones en el Mioceno: constituidas por piritita, marcasita, blenda y galena, que se sitúan en conglomerados y margas.



- Filones o cuerpos filonianos: se encuentran principalmente en las zonas de confluencia de fallas. Los filones han tenido muy poca relevancia en la minería desarrollada en la Sierra Minera de Cartagena.
- *Stockworks*: constituidos por mineralizaciones del tipo Pb-Zn.
- Zonas de oxidación, monteras o *gossan*: se encuentran en zonas próximas a la superficie, y están formadas por óxidos, sulfatos y, en ocasiones, por elementos nativos como Ag o Cu.

La extracción mineral en la Sierra Minera de Cartagena-La Unión ha sido desarrollada durante más de 2500 años por los distintos pueblos que han colonizado esta zona, confiriéndole la característica de ser uno de los enclaves mineros más importantes de España y de Europa.

Iniciada en la Edad de Bronce y continuada por los Cartagineses a principios del siglo III A.C., vio su primer esplendor durante la época romana, con la fundación de Carthago Nova. Los romanos extraían principalmente plata, que comerciaban con los enclaves más importantes del Imperio a través del Portus Magnus (actual Portmán) (Región de Murcia Digital, b). Durante la Edad Media se produjo una recesión de la actividad minera, como consecuencia de las invasiones bárbaras y posteriormente de las musulmanas (Martos, 2007).

El segundo auge de la actividad minera tuvo lugar en el siglo XIX. En el marco de la Revolución Industrial, la promulgación de la Ley de Minas de 1825 fue uno de los factores que permitió el resurgimiento del sector (Región de Murcia Digital, b), pues regulaba la concesión de minas a empresas españolas o extranjeras por parte de la Corona y proveía de una cobertura jurídica a la actividad minera (Rodríguez et al., 2006). Su repercusión más importante tuvo lugar en la Sierra Minera de Cartagena-La Unión (Región de Murcia Digital, a). Pero fue el descubrimiento del filón Jaroso de Almagrera en 1839 el factor que propició el verdadero auge en la Comarca, situando a España en los primeros puestos exportadores de Pb y Ag del mundo a mediados de siglo, y que desató lo que se conoce como una “fiebre de la plata” en la zona (Martos, 2007). También se explotaban yacimientos de Zn y Fe (Región de Murcia Digital, a).

La necesidad de mano de obra propició un rápido crecimiento demográfico en la zona. En 1860 se crea el municipio de La Unión, tras la separación de las pedanías de El Garbanzal, Roche, Portmán y Herrerías del municipio de Cartagena (Martos, 2007).

Esta fiebre minera se detiene tras el fin de la Primera Guerra Mundial, debido a la reducción del valor de los metales, la sobreexplotación de los yacimientos, la escasa inversión en tecnología que hiciese rentable la actividad extractiva y las pésimas condiciones laborales de los mineros (Región de Murcia Digital, a). En 1950 la empresa multinacional Peñarroya compró los derechos de titularidad de las minas, iniciándose así una nueva etapa de prosperidad para la actividad extractiva en la Sierra Minera (Martos, 2007). Entre 1980 y 1990 la Sierra Minera de Cartagena producía una tercera parte de todo el Pb español, y España producía un 45% de todo el Pb europeo (Región de Murcia Digital, b).

Hasta entonces el sistema de explotación había sido la minería subterránea, pero Peñarroya introduce la explotación de las minas a cielo abierto mediante el método de cortas, con el fin de aumentar la rentabilidad de la actividad extractiva (Región de Murcia Digital, b). El material que se extrae de la mina está formado por el mineral de interés (mena) y por mineral sin valor (ganga). La separación de estas dos fracciones se realiza en tres etapas: trituración, molienda y concentración. En la fase de trituración los materiales extraídos, con tamaños de hasta 1,5 m, se reducen hasta 0,5-2 cm. En la fase de molienda el diámetro de partícula se reduce hasta un rango entre 10 y 300  $\mu\text{m}$ . Por último tiene lugar la concentración de las menas, que aprovecha las propiedades físicas y químicas de las fracciones útil y sin valor para su separación (Cortés y Guillén, 2010).

Hasta 1950, la trituración y molienda se había realizado por medios mecánicos y la concentración de la mena tenía lugar por gravimetría, en cribas de cajón o en rumbos (Región de Murcia Digital, a). Este método aprovechaba la diferencia de densidad existente entre la mena y la ganga para su separación en medio acuoso (Cortés y Guillén, 2010). La empresa Peñarroya

## INTRODUCCION.

---

introduce una nueva tecnología: los lavaderos minerales por flotación diferencial. Este método de concentración de la mena se basa en la afinidad de los distintos minerales por el agua o por el aire. En las celdas de flotación se introducía aire y reactivos químicos selectivos para cada mineral. Los reactivos modificaban las propiedades químicas de las partículas minerales, convirtiendo en aerofílicos los minerales de la mena e hidrofílicos los minerales de la ganga. La inyección de aire provocaba la formación de burbujas, que retenían la mena, dando lugar a una espuma superficial. Esta espuma era recogida mediante un sistema de espátulas giratorias y pasaba a las balsas de secado. La ganga sedimentaba en el fondo de las celdas de flotación, constituyendo la “cola” del proceso (Cortés y Guillén, 2010).

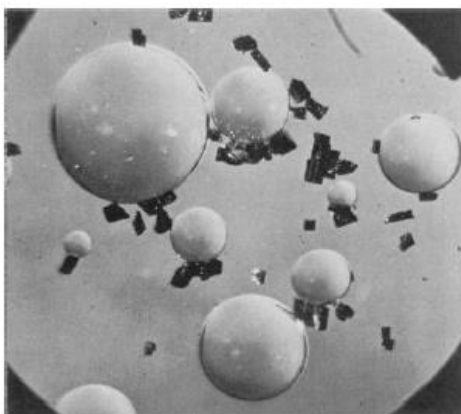


Ilustración 1. Flotación de la mena (Cortés y Guillén, 2010).

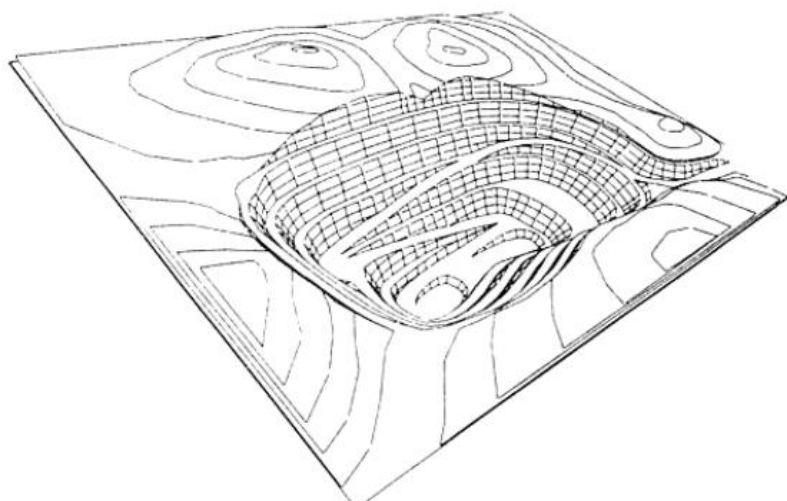


Ilustración 2. Esquema de una corta (Herrera, 2006).

## INTRODUCCION.

---

Las colas estaban constituidas principalmente por roca finamente molida mezclada con agua y eran bombeadas o conducidas por gravedad, en forma de lodos acuosos, hacia las balsas de estériles (Rodríguez et al., 2011). Durante esta etapa se produce un enorme impacto paisajístico, intrínseco a la explotación de minas a cielo abierto pero también debido a la formación de extensos escoriales de estériles, que actualmente pueden verse por toda la Sierra. Según Rodríguez et al. (2011), se extrajeron un total de 3 millones de toneladas de concentrados de Zn, Cu, Pb y Fe durante todas las etapas de explotación de la Sierra. El impacto más significativo tuvo lugar en la Bahía de Portmán, en la que se vertieron 70 millones de toneladas de estériles mineros de Pb y Zn desde 1957 hasta 1990, provocando su colmatación (López et al., 2010; Martos, 2007). La ilustración 3 muestra dos ejemplos del significativo impacto paisajístico de la actividad minera durante la segunda mitad del siglo XX.



Ilustración 3. Sierra Minera Cartagena- La Unión: Minas Inocente y Nelson (izquierda); Corta Brunita (derecha). Fuente: Balsas,P. (2008); recuperado de <http://www.panoramio.com/>.

A finales de los años 80, el agotamiento de las explotaciones mineras, la caída de los valores del metal en el mercado internacional y la preocupación social por la excesiva contaminación de la Bahía de Portmán conllevan al cese definitivo, en 1991, de la actividad minero-extractiva en la Sierra Minera de Cartagena-La Unión (Martos, 2007; Región de Murcia Digital, a).

Entre finales de los años 90 y principios del 2000 se llevaron a cabo diversas medidas para promover el desarrollo de esta zona, que se sumió en

una profunda depresión socio-económica tras el cierre de las explotaciones mineras. De acuerdo con Martos (2007), algunas de estas medidas fueron:

- Actuaciones por parte de las Administraciones central, regional y local para recuperar la Bahía de Portmán.
- Promulgación de Directrices y del Plan de Ordenación del Litoral de la Región de Murcia (2004) para restaurar la Sierra Minera y la Bahía de Portmán.
- Creación de la Fundación Sierra Minera, en 1998.
- Creación del Consorcio Turístico Sierra Minera, en 2004.
- Propuesta para declarar la Sierra Minera como un Bien de Interés Cultural.

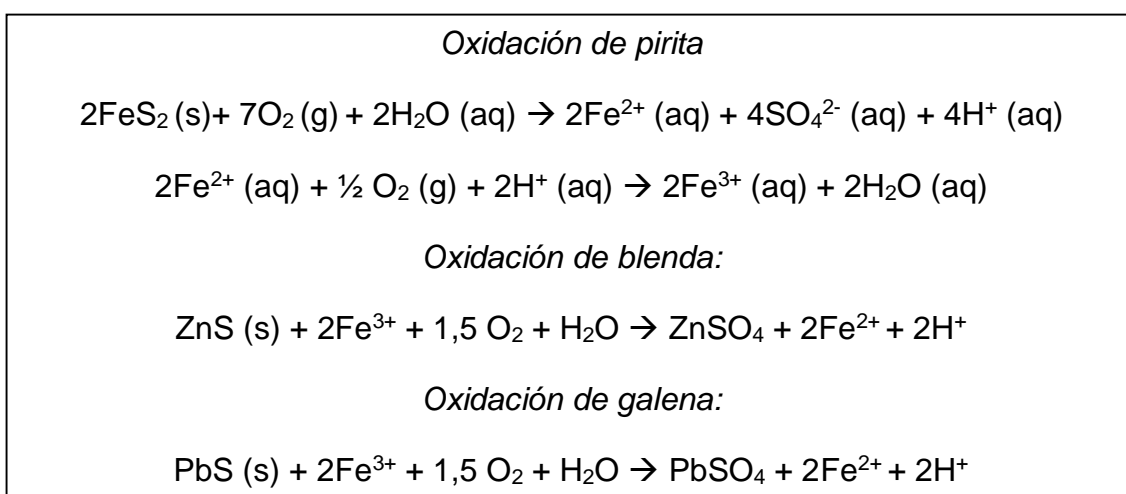
## 2.2 IMPACTOS AMBIENTALES DE LA PRESENCIA DE DEPÓSITOS DE ESTÉRILES.

El paisaje que observamos como resultado de la pasada actividad minera, principalmente la llevada cabo durante los últimos años de explotación, está conformado por cerros recortados, escombreras cercanas a las minas y balsas de estériles. Romero y García (2007) cifran el movimiento de tierras realizado durante la segunda mitad del siglo XX en 360 millones de toneladas, de las cuales 315 son residuos.

Los depósitos mineros abandonados comportan importantes riesgos medioambientales y para la salud humana, debido a su **elevado contenido en metales pesados y metaloides**. Por ello, actualmente existe un gran interés por parte de las Administraciones en métodos y tecnologías que permitan su remediación y se están desarrollando numerosas investigaciones con dicho fin (Park et al., 2011).

Los residuos de roca y estériles están constituidos fundamentalmente por sulfuros de Fe, Fe y Cu, Fe y As, Zn y Pb (pirita, calcopirita, arsenopirita, blenda y galena, entre otros). La exposición de minerales que contienen

sulfuros a condiciones oxidantes tiene como resultado la generación de lixiviados extremadamente ácidos y salinos, que contienen elevados niveles de sulfatos, hierro y otros metales pesados disueltos, como Cd, Cu y Zn, conocidos como drenaje ácido de mina (Navarro et al., 2008; Parker y Robinson, 1999 citado en Martínez-Pagán et al., 2011). La ocurrencia de estas reacciones de oxidación, conocida como alteración supergénica de los sulfuros, es el factor que más influye en la movilidad de los metales (Martínez y Pérez, 2007). Además, los iones  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  favorecen la oxidación de nuevos sulfuros (ecuación 1) (Allan, 1995):



Ecuación 1. Reacciones de alteración supergénica de sulfuros (González et al., 2011; Martínez y Pérez, 2007).

La movilidad de los metales pesados y metaloides está fuertemente influenciada por la variación del pH en el medio. En general, un pH ácido favorece la desorción y disolución de dichos metales en la solución del suelo, mientras que un pH neutro o básico provoca su precipitación y la movilidad se ve reducida. Aunque esto no se cumple para todos los elementos traza, puede considerarse una regla general, con excepción por ejemplo del As que presenta mayor movilidad a pH neutro y básico (Bes et al., 2014). La formación de iones  $\text{H}^+$  como consecuencia de las reacciones de oxidación provoca un aumento de la acidificación (Martínez y Pérez, 2007). Al disolverse los metales en la solución del suelo, aumenta su disponibilidad y por lo tanto el riesgo de contaminación de suelos y aguas superficiales cercanos, a través de la

escorrentía, la capacidad de absorción por las plantas y la contaminación de aguas subterráneas mediante lixiviación.

Como consecuencia del gran movimiento de tierras y de la modificación de las pendientes naturales del terreno que conlleva la minería, el suelo pierde su estructura y su cobertura vegetal, lo que, unido a la fina granulometría de los materiales, aumenta el riesgo de erosión hídrica y eólica de los depósitos (Rodríguez et al., 2011). De este modo tiene lugar un **transporte y dispersión de los contaminantes** a zonas cercanas (contaminación secundaria según el criterio de Moore y Luoma, 1990). Este suceso es de capital importancia en zonas con clima semiárido, como es la Región de Murcia. Durante los meses de verano, debido a la elevada tasa de evaporación, los procesos de capilaridad transportan a la superficie del suelo grandes cantidades de sales solubles (Gómez-Ros et al., 2013), que precipitan en forma de eflorescencias salinas con elevados contenidos de metales pesados, como Zn, Cu, Pb, Cu y Cd, tal como demostraron Carmona et al. (2009). Cuando tienen lugar las precipitaciones, que aunque escasas, son de carácter torrencial, el agua de escorrentía disuelve las sales, transportando los metales hacia zonas exteriores al depósito. Navarro et al. (2008) sugirieron que el transporte de metales adsorbidos en el material particulado del suelo (principalmente Pb y Zn) también constituye una fuente de contaminación importante, debido a la erosión de los residuos mineros por el agua de escorrentía. Diversos estudios han demostrado la **presencia de residuos** procedentes de minas **en suelos agrícolas** cercanos a la Sierra Minera (Belmonte et al., 2010), **en cursos de agua** y en la laguna del Mar Menor (Navarro et al., 2008; Zornoza et al., 2012a).

Otro factor que contribuye a la dispersión de los metales pesados es el viento. La erosión eólica afecta principalmente a las balsas de finos, debido a la falta de vegetación y al pequeño tamaño y densidad de las partículas suspendidas en las mismas, que pueden ser transportadas a lo largo de grandes distancias (Romero y García, 2007).

Las condiciones de los suelos de los depósitos mineros resultan desfavorables para el desarrollo vegetal: pH extremadamente ácido (con algunas excepciones), elevada salinidad, altas concentraciones de metales pesados y metaloides, bajo contenido de materia orgánica y nutrientes, nula o escasa actividad microbiana, falta de estructura edáfica, poca capacidad de retención de agua, entre otros (Zornoza et al., 2013a). A pesar de ello, ciertas especies son capaces de colonizar este tipo de medios (e.g. Conesa et al., 2007a; Párraga-Aguado et al., 2013). La ingesta de estas plantas por animales herbívoros constituye una forma de **entrada de metales pesados en la cadena trófica**.

Debido a la estructura de los depósitos, bajo condiciones climáticas adversas aumenta su vulnerabilidad al hundimiento. De acuerdo con Rodríguez et al. (2011), la **estabilidad de las balsas** de estériles se ve afectada por el colapso de las presas, deslizamientos y erosión del pie del talud y erosión en cárcavas. El deslizamiento del talud puede tener lugar durante episodios de lluvias torrenciales, que provocan erosión en su pie y el desbordamiento del agua por encima del mismo. Las balsas de estériles de la Sierra Minera no se impermeabilizaron ni se instalaron sistemas de drenaje interior, por lo que, ante un episodio de lluvias torrenciales, la única salida del agua tiene lugar mediante evaporación, infiltración o sobrepaso del talud. Además, las elevadas pendientes de los taludes favorecen la pérdida de material por erosión. Tras finalizar la explotación de los yacimientos minerales en la Sierra Minera, no se llevó a cabo ningún plan de cierre o rehabilitación de dichas balsas. El volumen de lodos de flotación estimado es del orden de 175 millones de m<sup>3</sup> (Rodríguez et al., 2011).

Por último, es común en los depósitos de la Sierra Minera la presencia de instalaciones características de las **construcciones mineras** (castilletes, pozos, chimeneas, lavaderos, hornos, casas de máquinas, túneles y galerías), **en mal estado de conservación**, debido al abandono de estas zonas tras el cese de la actividad extractiva, que en varias ocasiones han culminado en el **derrumbamiento de algunas estructuras** (Martínez y Pérez, 2007; Martos, 2007).





Ilustración 4. Castillete del Cabezo Rajao. Fuente: Fundación Sierra Minera. Centro de Interpretación de la mina Las Matildes (2007); recuperado de <http://www.fundacionsierraminera.org/>.



Ilustración 5. Chimenea en la Rambla del Avenque. Fuente: Fundación Sierra Minera. Centro de Interpretación de la mina Las Matildes (2007); recuperado de <http://www.fundacionsierraminera.org/>

### **2.3 ESTRATEGIAS DE REHABILITACIÓN DE DEPÓSITOS MINEROS.**

A lo largo de las dos últimas décadas, las investigaciones referentes a la rehabilitación de suelos contaminados por metales pesados han ido en aumento, debido al conocimiento de los riesgos que supone su abandono y la obligación de las Administraciones de intervenir ante esta problemática.

Para la rehabilitación de suelos contaminados con metales pesados pueden llevarse a cabo tres acciones principales: i) aislamiento e inmovilización, ii) extracción y iii) modificación o destrucción de los contaminantes (Volke y Velasco, 2002). Existen diferentes tecnologías para realizar dichas acciones. Algunas de ellas sólo pueden aplicarse in situ, otras se aplican únicamente ex situ y determinados métodos pueden desarrollarse tanto in situ como ex situ.

A continuación se presenta un cuadro comparativo con las ventajas e inconvenientes de la remediación in situ y ex situ:

Tabla 1. Ventajas e inconvenientes de las técnicas de remediación in situ y ex situ (Adaptado de Volke y Velasco, 2002).

	Remediación <b>IN SITU</b>	Remediación <b>EX SITU</b>
<b>Ventajas</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Menor coste</li><li>- Menor impacto ambiental</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Menor tiempo de tratamiento</li><li>- Mayor homogeneidad de los resultados</li></ul>
<b>Inconvenientes</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Mayor tiempo de tratamiento</li><li>- Riesgo de heterogeneidad de los resultados</li><li>- Dificultad para verificar su eficacia</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Mayor impacto ambiental</li><li>- Mayor coste</li></ul>

Las tecnologías de rehabilitación pueden clasificarse en tratamientos físico-químicos, tratamientos térmicos y tratamientos biológicos (Volke y Velasco, 2002):

### 2.3.1 Tratamientos físico-químicos.

- **Remediación electrocinética o electrodescontaminación:** emplea un campo eléctrico para extraer los metales que se encuentran en forma iónica en un medio acuoso.
- **Lavado de suelos:** se trata de una técnica ex situ, que emplea soluciones acuosas con aditivos, que retienen los metales. Estas soluciones deben ser tratadas posteriormente.
- **Inundación del suelo:** el principio es el mismo que el de la técnica anterior, pero se realiza in situ, con grandes cantidades de agua.

- **Solidificación/estabilización:** limita la movilidad del contaminante mediante la adición de materiales que lo atrapan físicamente. Puede emplearse cal, cemento Portland o polímeros.
- **Tratamiento químico:** los contaminantes participan en reacciones de oxidación-reducción, transformándose en compuestos menos móviles y/o menos tóxicos. Se emplean agentes oxidantes como el ozono, el peróxido de hidrógeno o hipocloritos. Puede aplicarse in situ o ex situ.
- **Separación física:** consiste en separar la fracción granulométrica más fina del suelo de las fracciones más gruesas, ya que los metales se adhieren preferentemente a ella. Posteriormente, es necesario aplicar otro tipo de tratamiento a esta fracción. La separación magnética es la técnica más común.
- **Contención in situ:** consiste en cubrir el suelo contaminado y/o disponer paredes de contención (Sánchez, 2005) con roca procedente de extracciones mineras, arcilla, suelo procedente de áreas adyacentes, grava (Mendez y Maier, 2008), geomembranas, tabiques de madera, cemento, hormigón armado, etc (Higuera y Oyarzun, s.f.). Sin embargo, esta capa de cobertura es especialmente efímera en climas semiáridos, debido a la erosión eólica e hídrica (Newson y Fahey, 2003 citado en Mendez y Maier, 2008). Además en áreas extensas no resulta rentable (Conesa et al., 2007a).
- **Contención ex situ:** consiste en excavar el suelo contaminado y disponerlo en un vertedero especial (Sánchez, 2005). El movimiento de tierras en áreas de gran extensión, como son las balsas de lodos de la Sierra Minera, resulta económicamente inviable (Conesa et al., 2007a) y constituye una medida medioambientalmente poco adecuada (Alvarenga et al., 2008).

Las técnicas de remediación de carácter físico-químico requieren en la mayoría de los casos un tratamiento de los residuos generados, lo que disminuye su rentabilidad económica. Además, suelen necesitarse permisos oficiales e inspecciones frecuentes (Conesa et al., 2007a; Volke y Velasco, 2002).

### 2.3.2 Tratamientos térmicos.

Estos métodos consiguen la extracción de los contaminantes aumentando su movilidad mediante la aplicación de altas temperaturas. Son los que tienen mayor coste económico. Para el tratamiento de metales pesados se emplea la técnica de **vitrificación**. Se trata de un método de solidificación/estabilización, mediante el cual el suelo se funde a temperaturas entre 1600-2000 °C, aplicando una corriente eléctrica, y que tiene como resultado la formación de materiales cristalinos químicamente estables, que no producen lixiviados y que contienen en su estructura los metales pesados (Higueras y Oyarzun, s.f.; Volke y Velasco, 2002).

### 2.3.3 Tratamientos biológicos.

Los tratamientos biológicos emplean seres vivos y se basan en la utilización que éstos pueden hacer de los contaminantes para su catabolismo (como fuente de energía o como nutrientes). Existen tratamientos in situ y ex situ, y los organismos que suelen emplearse son hongos, bacterias y plantas. Las biotecnologías que se emplean para rehabilitación de suelos contaminados con metales pesados son la **bioaumentación** y la **fitorremediación**. La bioaumentación emplea microorganismos (hongos y bacterias) para la descontaminación del suelo (Volke y Velasco, 2002). La fitorremediación consiste en el uso de plantas para dicho fin (Cunningham y Ow, 1996). Es bien conocido que las plantas son capaces de modificar las condiciones del medio que las rodea como consecuencia de su actividad metabólica. Gracias a ello, estos cambios en el medio van a modificar la disponibilidad y movilidad de los metales contenidos en el suelo (e.g. Moreno-Jimenez et al., 2011).

Según el destino último de los metales pesados, existen dos variantes de fitorremediación: la fitoextracción y la fitoestabilización (Wong, 2003).

La **fitoextracción** consiste en la absorción y traslocación de los metales presentes en el suelo desde las raíces hasta las partes aéreas de las plantas. Este proceso es llevado a cabo por determinadas especies conocidas como

“hiperacumuladoras”, capaces de almacenar grandes cantidades de metales pesados en sus tejidos (Fornes et al., 2009). Aunque la disponibilidad y movilidad de los metales en el suelo se reduce, aumenta el contenido de los mismos en las partes aéreas de las plantas y en la superficie del suelo, constituyendo un riesgo de entrada de contaminantes en la cadena trófica (Kabas et al., 2012). El empleo de la fitoextracción en suelos altamente contaminados no es recomendable, debido a que se requiere mucho tiempo para conseguir una completa rehabilitación del ecosistema (Wong, 2003).

La **fitoestabilización** se define, según Wong (2003), como el empleo de especies vegetales tolerantes a metales para inmovilizar metales pesados, mediante acumulación en las raíces o precipitación en la rizosfera. Las plantas fitoestabilizadoras han desarrollado mecanismos para evitar la translocación de metales pesados a las partes aéreas, evitando así el riesgo de entrada de metales pesados en la cadena trófica. La fitoestabilización reduce la biodisponibilidad de los contaminantes, aumenta el contenido de materia orgánica en el suelo, mejora su estructura superficial, reduciendo la erosión eólica e hídrica, restaura la biodiversidad (vegetal y microbiana) del ecosistema y favorece el desarrollo de los procesos naturales del suelo (Pardo et al., 2014; Zornoza et al., 2013a), creando, en última instancia, un ecosistema autosostenible a largo plazo. Además, en comparación con el resto de técnicas existentes, resulta más económica, efectiva y medioambientalmente sostenible (Yang et al., 2010).

La ilustración 6 muestra un esquema de los procesos que constituyen la fitoestabilización: precipitación de los metales por las bacterias del suelo y los exudados radiculares, y absorción radicular de los metales. Como se ha comentado anteriormente, la acumulación de metales en los tejidos aéreos de las plantas no es el objetivo de esta técnica.

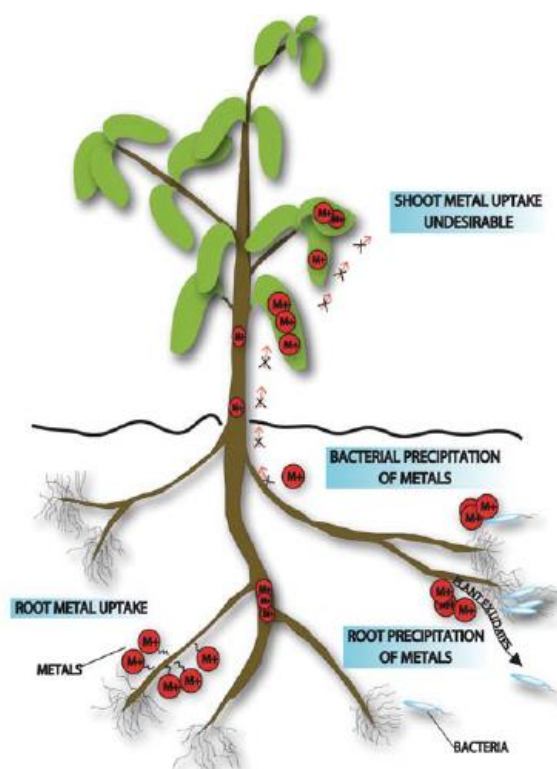


Ilustración 6. Esquema de los mecanismos de fitoestabilización (Mendez y Maier, 2008).

Para conseguir una comunidad vegetal autosostenible deben elegirse especies autóctonas, adaptadas al clima característico de la zona que se pretende rehabilitar. En climas áridos y semiáridos, las plantas serán resistentes a la sequía y a la salinidad (Conesa et al., 2006, 2007b). Adicionalmente, el empleo de especies autóctonas evita la introducción de especies invasoras que pueden reducir la biodiversidad vegetal regional (Mendez y Maier, 2008). Conesa et al. (2007b) recomiendan buscar especies que hayan colonizado espontáneamente depósitos mineros con características similares y que estén completamente adaptadas a altos niveles de contaminación.

### 2.3.4 Otros tratamientos.

En las zonas mineras del sureste español, durante la estación húmeda, el agua de lluvia disuelve los sulfatos hidratados que contienen metales pesados (generalmente de Zn, Al, Fe y otros) y los disemina en las zonas circundantes

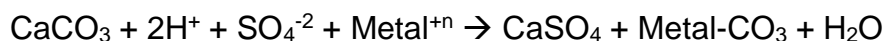
por medio de la escorrentía. Durante los meses de verano, debido a la elevada tasa de evaporación, la humedad del suelo prácticamente desaparece y estos sulfatos precipitan en forma de eflorescencias salinas. Carmona et al. (2009) determinaron los contenidos de metales presentes en dichas eflorescencias y descubrieron que pueden contener hasta veinte veces más Zn que la planta fitoextractora más eficiente. González et al. (2011) obtuvieron resultados similares. La extracción de estas eflorescencias constituye otra posible técnica de remediación, pero su coste es elevado cuando se trata de áreas extensas.

### **2.4 APLICACIÓN DE ENMIENDAS.**

La colonización natural de los depósitos mineros por parte de plantas pioneras es lenta o nula, debido a que las características físicas, químicas y biológicas de estos suelos no son adecuadas para la mayoría de las especies. Por ello, generalmente es necesario emplear técnicas agronómicas y aplicar enmiendas al suelo para facilitar la germinación y el crecimiento de las plantas (Conesa et al. 2007b). Diversos autores han documentado la necesidad de aplicar conjuntamente materiales orgánicos e inorgánicos, ya que cada uno de ellos juega un papel diferente en el suelo (Wong, 2003). La mejora de las propiedades del suelo antes de llevar a cabo un proyecto de revegetación es de especial importancia en climas áridos y semiáridos, ya que el desarrollo de especies arbustivas y arbóreas es deficiente y lento, debido a las extremas condiciones ambientales (Zornoza et al., 2012b).

#### **2.4.1 Aplicación de lodo de mármol como enmienda inorgánica.**

La calcita es la forma más abundante de  $\text{CaCO}_3$  en los suelos y tiene una influencia muy importante en la movilidad de los metales pesados (Kabata-Pendias, 2011), actuando de dos maneras: de forma directa, reaccionando químicamente con los metales y dando lugar a carbonatos metálicos insolubles (ecuación 2), e indirectamente, elevando el pH de los suelos, lo que favorece su precipitación y unión a óxidos y oxihidróxidos (De Santiago, 2013).



Ecuación 2. Reacción de los metales pesados con los carbonatos (Martínez y Pérez, 2007)

Como se ha comentado anteriormente, la movilidad de los metales está fuertemente influenciada por el pH, teniendo lugar procesos de adsorción-desorción, precipitación-disolución y complejación, en función de este parámetro.

Navarro et al. (2008) observaron que las zonas adyacentes al Cabezo Rajao ricas en carbonatos contenían menos metales solubles que aquellas cuyos suelos no eran calcáreos. González et al. (2011) obtuvieron resultados similares para el Pb y el Al, aunque no fue así para el Zn, As y Cd, cuya solubilidad estaba favorecida por la basicidad del medio.

El empleo de roca caliza como enmienda inorgánica es una posibilidad, pero resulta económica y medioambientalmente poco adecuada ya que es un recurso natural y no un residuo (Martínez Pagán et al., 2011). También se han empleado en proyectos de esta naturaleza las siguientes enmiendas: cal hidratada (Conesa et al., 2010), dolomía (Lagormarsino et al., 2011) o cal procedente del procesado de la remolacha azucarera (Pérez de Mora et al., 2006a, b, c).

La roca caliza se emplea en la industria para la producción de estructuras de mármol. Numerosos autores han demostrado la eficacia del residuo de mármol en la mejora de las propiedades de suelos contaminados con metales pesados: reducción de la acidez, inmovilización de los metales por precipitación en forma de carbonatos insolubles e inmovilización por precipitación y unión a óxidos y oxihidróxidos (Kabas et al., 2012; Kabas et al., 2014b) y estabilización de la materia orgánica lábil (Zornoza et al., 2013a). Además, la reducción de la acidez incrementa la disponibilidad de ciertos nutrientes (K, P, Mg, Ca y Mo), que son más móviles cuando el pH>6 (Barker, 1997).



En la Región de Murcia, el sector de extracción y procesamiento del mármol tiene una gran notoriedad, con una producción de 147000 m<sup>3</sup> al año. El conjunto de empresas dedicadas a la extracción y transformación de mármol se encuentran en la Comarca del Noroeste y, en menor medida, en el Altiplano, siendo un fuerte motor de desarrollo de estos municipios (Instituto de Fomento de la Región de Murcia, 2014).

A lo largo del proceso productivo, se obtienen diversos residuos, como los estériles o fracción sin valor extraída en la explotación, y finos y lodos procedentes del tratamiento de las aguas del proceso, empleadas en las operaciones de lavado, corte, etc. Las rocas que no se ajustan a los criterios de calidad estipulados, los estratos sin propiedades ornamentales y los desechos producidos en los trabajos de corte pueden ser aprovechados para la construcción, pero en ocasiones se llevan al vertedero (Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, 2004).

Los depósitos de caliza o mármol se explotan generalmente en canteras a cielo abierto. Posteriormente a su extracción en cantera, los bloques de mármol se llevan a taller para someterlos a los procesos que los transformarán en planchas y piezas con la forma, medidas y acabado requeridos en obra (Santos, 2004). Las etapas de elaboración de los productos terminados son las siguientes (Santos, 2004):

- Precorte.
- Corte primario.
- Corte secundario.
- Tratamiento superficial (pulido).
- Acabado.

De todas estas etapas, el precorte y el corte primario son las que más residuos generan (el aserrado de 3000 m<sup>2</sup> de mármol genera más de 600 t de residuos). En estas etapas, los bloques de mármol se cortan en un determinado número de planchas. Para ello pueden emplearse tres técnicas diferentes (Santos, 2004):

- Aserrado con telares: mediante telares multifleje tradicional o con telares de flejes diamantados. Es la técnica más empleada actualmente. Los telares cortan los bloques en planchas mediante abrasión con granalla de acero mezclada con agua y cal. Aunque los telares de flejes diamantados tienen un rendimiento más alto, el consumo de agua y energía es prácticamente el mismo, y resulta muy elevado (30 y 120 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> para los telares grandes y pequeños, respectivamente).



Ilustración 7. Placas resultantes del corte mediante telar. Recuperado de <http://www.sogestone.com>.

- Corte con hilo diamantado: la maquinaria está formada por un pórtico de acero, al que van ensamblados dos volantes que se desplazan verticalmente. Acoplado entre los volantes se sitúa el hilo diamantado. El hilo debe ser refrigerado constantemente mediante un circuito cerrado de agua, cuyo consumo es similar al de los telares.



Ilustración 8. Máquina de corte con hilo diamantado. Recuperado de [www.directindustry.es](http://www.directindustry.es).

- Aserrado por cortabloques: esta maquinaria no se emplea para elaborar planchas de mármol semifabricadas, si no productos ya terminados. Su consumo de agua es muy elevado: entre 35 y 60 L min<sup>-1</sup> para las sierras verticales y 25 L min<sup>-1</sup> para las horizontales.



Ilustración 9. Cortabloques de mármol. Recuperado de <http://www.amsgroupnet.com>.

Las aguas residuales generadas en el proceso de corte contienen granalla, partículas finas procedentes de la roca tratada y cal, por lo que deben someterse a un tratamiento de decantación para separar el agua, que puede ser reutilizada para un nuevo ciclo de producción, del resto de materiales mediante floculantes (Santos, 2004). La decantación se realiza en depósitos de sección rectangular o en conos de decantación. Generalmente el proceso de decantación no es eficiente, ya que no se consigue separar totalmente el agua de los residuos; por el contrario, se obtiene un líquido clarificado que no siempre puede ser reutilizado en el nuevo ciclo de proceso. Los lodos obtenidos, que contienen aproximadamente un 20-30% de humedad, se depositan en balsas de decantación, en las que se deshidratan por filtrado natural o mediante evaporación. La cantidad media de residuo seco producido es de  $170 \text{ kg m}^{-3}$  de lodo tratado. Su composición es carbonato prácticamente puro, sin presencia de elementos tóxicos (Santos, 2004). En la Región de Murcia se generan anualmente alrededor de 128000 toneladas de lodos de mármol (Martínez-Pagán et al., 2011) pero tan sólo un 10% son recuperados.

La gestión actual de la fracción no recuperable lleva consigo diversos efectos negativos (Santos, 2004). Para realizar las balsas de decantación se requieren grandes extensiones de terreno, reduciéndose así la superficie disponible para otros usos y generándose un fuerte impacto paisajístico. La presencia de las balsas de decantación supone un gran impacto ambiental, ya que modifican el medio en el que se encuentran, existiendo riesgo de rotura de las presas de contención de las balsas. El lodo de mármol está constituido por alrededor de un 98% de carbonatos, por lo que su aplicación constituye una apuesta segura en la neutralización de la acidez, con la ventaja de que estamos valorizando un residuo.

### **2.4.2 Aplicación de enmiendas orgánicas.**

Las propiedades de los suelos mineros se ven muy afectadas por la extrema acidez (aunque también los hay neutros), elevada conductividad eléctrica, escaso o nulo contenido de carbono orgánico y nutrientes, falta de estructura y ausencia de actividad microbiana (Conesa et al., 2006). La materia orgánica constituye una fuente de nutrientes para las plantas y los microorganismos, mejora la estructura del suelo, la capacidad de retención de agua, aumenta la biomasa microbiana del suelo y su actividad y, en definitiva, mejora las características físicas, químicas y biológicas del mismo (Zornoza et al., 2013a). Adicionalmente, algunas moléculas orgánicas pueden formar compuestos estables con los metales pesados y reducir su movilidad.

Todas las reacciones entre cationes y la materia orgánica (MO) dan lugar a la formación de compuestos solubles o insolubles en agua. Las interacciones que tienen lugar entre la materia orgánica y los metales son: intercambio iónico, adsorción superficial, quelación, coagulación y precipitación (Kabata-Pendias, 2011). Dependiendo de la fracción de la materia orgánica y de la naturaleza de los metales/metaloides, la combinación de ambos puede dar lugar a complejos orgánicos estables metal/metaloides-humus, que permanecen inmóviles en el suelo, o a complejos orgánicos solubles, móviles y directamente disponibles para las plantas (De Santiago, 2013).

La MO del suelo se divide generalmente en cuatro fracciones según el tamaño de las partículas y su estado de descomposición, tal como muestra la figura 1:

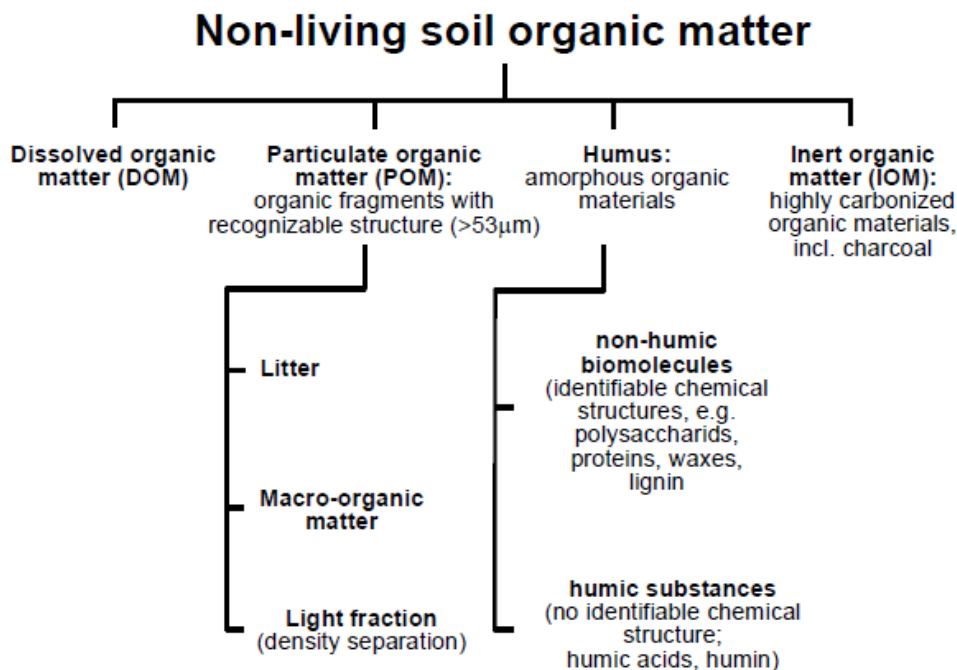
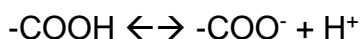


Figura 1. Composición de la materia orgánica del suelo (Krull et al., 2004).

Las sustancias húmicas tienen propiedades secuestradoras y complejantes debido a su estructura molecular, y muestran una gran afinidad por los iones metálicos (Kabata-Pendias, 2011). Se dividen en ácidos húmicos (fracción soluble) y huminas (fracción insoluble). La estructura molecular de los ácidos húmicos está compuesta por un núcleo central hidrófobo, formado por grupos funcionales estables, al que están unidas cadenas alifáticas asociadas a grupos carboxilo, hidroxilo y quinonas, hidrófilas y orientadas hacia el exterior de la molécula (Jordán, 2005). La ionización de estos grupos carboxilo y fenol aumenta las posiciones de cambio, a las que pueden unirse los metales pesados (Park et al., 2011; Pérez-Esteban et al., 2014), hecho que ocurre cuando aumenta el pH (Park et al., 2011) (ecuación 3):



Ecuación 3. Disociación de un grupo carboxílico de los ácidos húmicos al incrementar el pH del suelo (Jordán, 2005)

Dentro de los ácidos húmicos encontramos dos fracciones: los ácidos húmicos en sentido estricto y los ácidos fúlvicos. Los primeros son solubles en medio neutro y básico, pero precipitan en medio ácido. Los segundos son siempre solubles, independientemente del pH del medio y tienen una mayor reactividad (Jordán, 2005). Por ello, los complejos metal-ácidos fúlvicos son más solubles y, por tanto, están más disponibles para las plantas (Kabata-Pendias, 2011).

Al aplicar enmiendas orgánicas en suelos contaminados por metales pesados, debemos tener en cuenta la naturaleza y madurez de la materia orgánica que estamos aportando. La materia orgánica disuelta (MOD) está formada por las partículas con diámetro menor a 0,45  $\mu\text{m}$  (Li et al., 2013). Enmiendas ricas en carbono orgánico disuelto pueden aumentar la movilidad de los metales mediante la formación de complejos solubles con los iones metálicos o por la competencia con dichos metales por la superficie de las partículas del suelo (Guisquiani et al., 1998 citado en Antoniadis y Alloway, 2002).

La relación C/N nos da una idea de la calidad de la materia orgánica (Ottenhof et al., 2007). Enmiendas estabilizadas como el compost, tienen una relación C/N en torno a 10-15, por lo que aportan mayor cantidad de ácidos húmicos y menos ácidos fúlvicos. Estas enmiendas tienen, por tanto, mayor capacidad de retención de metales (Pérez-Esteban et al., 2014).

Otras moléculas que reducen la movilidad de los metales pesados son los fosfatos. Los fosfatos se emplean frecuentemente como enmiendas inorgánicas en proyectos de remediación de suelos contaminados (Park et al., 2011), pero enmiendas orgánicas ricas en fósforo, como el purín de cerdo,

también pueden promover la formación de precipitados metálico-fosfatados (Zornoza et al., 2013a).

El siguiente esquema de Park et al. (2011) (ilustración 10) muestra las diferentes acciones de la materia orgánica en la rehabilitación biológica de suelos contaminados, incluyendo inmovilización, reducción, volatilización y alteración de las condiciones de la rizosfera.

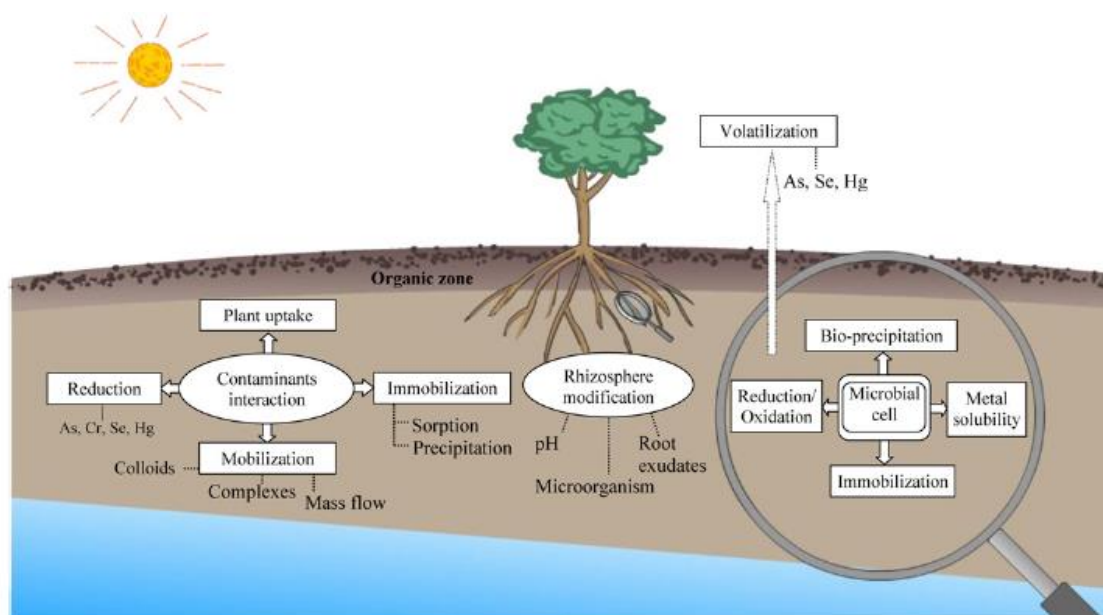


Ilustración 10. Acciones de regulación que ejerce la MO en los procesos de biorremediación de suelos contaminados por metales pesados (Park et al., 2011).

Las fuentes de materia orgánica que pueden emplearse son muy diversas. A continuación se indican algunas de las más usadas y diversos estudios en las que se han utilizado:

- **Biosólidos:** son compuestos orgánicos que se generan durante el tratamiento de aguas residuales y otros procesos industriales y agroindustriales. Pueden aplicarse en estado líquido (94-97% de agua) o una vez deshidratados (70% de agua) (EPA, 2000). El biosólido más comúnmente empleado es el fango procedente del tratamiento de aguas residuales urbanas (Alvarenga et al., 2008; Hernández et al., 2009; Peña et al., 2015; Zanuzzi et al., 2009; Zornoza et al., 2012b). También se utilizan biosólidos procedentes del procesado de la remolacha azucarera



(Alvarenga et al., 2008), de la fabricación de aceite de oliva (Clemente et al., 2006) o de la fabricación de papel. El inconveniente de la aplicación de biosólidos en los suelos reside en su contenido generalmente elevado de metales pesados (EPA, 2000; Vaca-Paulín et al., 2006).

- **Residuos sólidos urbanos:** suelen contener restos de comida y residuos de jardinería (Alvarenga et al., 2009 a, b; Karami et al., 2011).
- **Subproductos industriales:** alperujo (procedente de la extracción de aceite de oliva) (Pardo et al., 2011); virutas de corteza de pino (Lagomarsino et al., 2011); cenizas de carbón (Lee et al., 2011); fibra de madera (Pérez-Esteban et al., 2014), etc.
- **Estiércoles ganaderos:** de vaca (Clemente et al., 2006), oveja (Fornes et al., 2009; Pérez-Esteban et al., 2014), caballo (Pérez-Esteban et al., 2014), ave (Lagomarsino et al., 2011; Yang et al., 2010) o porcino (Kabas et al., 2012; Zanuzzi et al., 2009; Zornoza et al., 2013a).
- **Otros:** leonardita (Pérez de Mora et al., 2006a, b, c), poliacrilatos (De Varennes et al., 2011), biochar (Karami et al., 2011), residuos de poda compostados (Peña et al., 2015), turbas (Pérez-Esteban et al., 2014), humatos (Conesa et al., 2010), etc.

Zanuzzi et al. (2009) estudiaron la interacción entre los dos tipos de enmiendas (carbonato cálcico y MO) en un suelo del Distrito Minero de Cartagena-La Unión. Los resultados demostraron que la combinación única entre la materia orgánica y el carbonato cálcico (empleado como enmienda inorgánica) aceleró la formación de una buena estructura del suelo, con un alto porcentaje de porosidad, elevada capacidad de retención de agua y nutrientes. Todo ello fue posible gracias a la precipitación recíproca de las partículas de una enmienda sobre las partículas de la otra, debido a la interacción entre los grupos funcionales de ambos compuestos.

La aplicación de purín de cerdo en la rehabilitación de suelos contaminados ha sido previamente documentada por varios autores (e.g. Pardo et al., 2011; Zornoza et al., 2012b). El empleo de purín de cerdo en este tipo de proyectos es muy interesante debido a que contiene una elevada cantidad de nutrientes (principalmente N y P).

El purín de cerdo es el estiércol líquido procedente de la ganadería porcina. La principal aplicación que se da al purín es la de fertilizante (un 92% del que sale de las explotaciones según Gómez (2014)), ya que contiene todos los elementos necesarios para la nutrición vegetal (Irañeta et al., 2002). Sin embargo, debido al rápido incremento del número y las dimensiones de las explotaciones porcinas en nuestro país y a la intensificación del sistema de producción (Espejo y García, 2009), no es posible emplear todo el purín generado como fertilizante de cultivos comerciales. Cabe destacar que España es el segundo productor de porcino de la Unión Europea. El 10% del sector porcino de España se concentra en la Región de Murcia (Zornoza et al., 2012b), que cuenta con cerca de 2 millones de cerdos. Esto da lugar a una generación anual de 6,5 Hm<sup>3</sup> de residuos (Zornoza et al., 2013b).

La gestión sostenible de este excedente representa un gran reto en la actualidad. Su elevado contenido en N y P lo convierte en una fuente potencial de contaminación de aguas freáticas y superficiales por nitratos por lixiviación de nitratos y de aguas superficiales por escorrentía. Estos nutrientes favorecen el proceso de eutrofización de las aguas cuando se encuentran en elevadas concentraciones, alterando el equilibrio de las poblaciones acuáticas y disminuyendo la calidad del agua. Otros efectos negativos derivados de su mala gestión son la acumulación de Cu y Zn cuando se aplica en exceso en una misma parcela, emisión de gases tóxicos, acidificación y salinización del suelo (Teira, 2008).

La tabla 2 muestra la producción anual de purín en España y su contenido en N según los diferentes lotes de una explotación:

Tabla 2. Volumen anual de estiércol de los distintos tipos de ganado porcino y su contenido en nitrógeno (RD 324/2000).

Tipo de ganado (plaza)	Estiércol líquido y semilíquido (m <sup>3</sup> /año)	Contenido en nitrógeno (kg/plaza/año)
Cerda en ciclo cerrado*	17,75	57,6
Cerda con lechones hasta destete (0 a 6 kg)	5,1	15
Cerda con lechones hasta 20 kg	6,12	18
Cerda de reposición	2,5	8,5
Lechones de 6 a 20 kg	0,41	1,19
Cerdo de 20 a 50 kg	1,8	6
Cerdo de 50 a 100 kg	2,5	8,5
Cerdo de cebo de 20 a 100 kg	2,15	7,25
Verracos	6,12	18

El empleo de purín bruto o de su fase sólida tras una separación física en proyectos de fitoestabilización asistida, permite gestionar de forma sostenible y valorizar este residuo.

### 3 MATERIALES Y MÉTODOS.

---

#### 3.1 ÁREA DE ESTUDIO.

Este estudio se llevó a cabo en el depósito minero de lodos de flotación de la mina Santa Antonieta, situado en la Sierra Minera o antiguo Distrito Minero de Cartagena-La Unión (37° 35' 38" N, 0° 53' 11" W) (Ilustración 11 y 12). El clima de la zona es mediterráneo semiárido, con una temperatura media anual de 18 °C y una precipitación media anual de 275 mm; cuenta con un período seco muy prolongado y precipitaciones máximas en primavera y otoño. La tasa de evapotranspiración potencial supera los 900 mm anuales (Zornoza et al., 2013b). El depósito tiene una superficie de 1,4 ha.

El suelo corresponde a un Tecnosol espólico (IUSS, 2014), de textura franco-arenosa. La pedogénesis y propiedades de los tecnosoles tienen un origen antrópico y es reconocible la presencia de materiales extraídos de la tierra o fabricados a partir de ellos (IUSS, 2014).

El rango de concentraciones totales de metales pesados en este depósito es de 1246-2048 mg kg<sup>-1</sup> de Pb, 829-5899 mg kg<sup>-1</sup> de Zn, 0,73-6,65 mg kg<sup>-1</sup> de Cd, 187-606 mg kg<sup>-1</sup> de As y 41-124 mg kg<sup>-1</sup> de Cu. Las propiedades mecánicas, físicas, químicas y biológicas del suelo eran deficientes: bajo contenido en materia orgánica y nutrientes, baja cohesión, inestabilidad, extremada acidez y elevado contenido en metales pesados (Zornoza et al., 2013b).



Ilustración 11. Área de estudio.

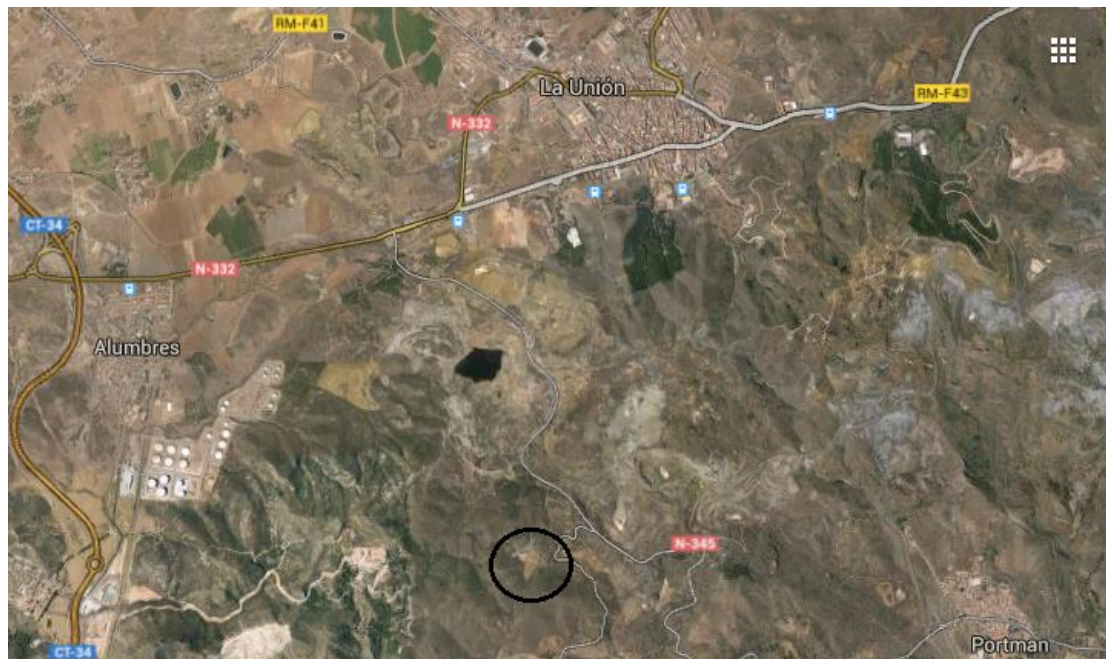


Ilustración 12. Localización del depósito minero Santa Antonieta en el Distrito Minero de Cartagena-La Unión

### 3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se ha seleccionado la tecnología de fitoestabilización asistida para rehabilitar el depósito minero. Se emplearon tres enmiendas (purín de cerdo

bruto, estiércol porcino y lodo de mármol ( $\text{CaCO}_3$ ) para rehabilitar el depósito minero, con el propósito de corregir la acidez, incrementar el contenido de MO y nutrientes, mejorar la estructura del suelo, reducir la movilidad de metales pesados y, en última instancia, para facilitar el establecimiento y crecimiento de la vegetación. Las características de las enmiendas empleadas se detallan en la tabla 3. Previamente a la aplicación de las enmiendas y la plantación y siembra de especies vegetales, se llevó a cabo un muestreo inicial en noviembre de 2010, para conocer las características del estéril minero en superficie (ilustración 14), tomando 12 muestras en toda la superficie del depósito a dos profundidades, 0-15 cm (S0) y 15-30 cm (P0). Las muestras se llevaron al laboratorio, se secaron al aire durante una semana y se tamizaron a un tamaño  $< 2$  mm.

Para aplicar adecuadamente las enmiendas, se realizó una nivelación de la superficie del depósito en marzo de 2011 (ilustración 15) y se creó un sistema de drenaje para evitar la formación de zonas encharcadas que pudiesen poner en riesgo la rehabilitación del mismo. Posteriormente, se efectuaron tres aplicaciones de enmienda orgánica: en julio y septiembre de 2011 se aplicó el purín de cerdo, tal como puede observarse en la ilustración 16, y en noviembre de 2011 se aplicó el estiércol porcino (ilustración 17), para favorecer la adecuada estabilización de la materia orgánica antes del establecimiento de la vegetación. Se realizó una única aplicación de lodo de mármol, en julio de 2011 (ilustración 18). Las enmiendas se adicionaron mecánicamente y todos los materiales fueron homogeneizados hasta una profundidad de 50 cm.

La dosis de lodo de mármol aplicada fue de  $6,7 \text{ kg m}^{-2}$ , según el método propuesto por Sobek et al. (1978), que determina la cantidad de  $\text{CaCO}_3$  necesaria para neutralizar la acidez potencial del suelo, en función del porcentaje de sulfuros presente. Se aplicó un factor de seguridad de 1,5 debido a la lenta reactividad del  $\text{CaCO}_3$  y para reducir los efectos de una homogeneización incompleta en el suelo.

El contenido total de sulfuros se determinó por oxidación con  $H_2O_2$  para establecer la acidez potencial en el suelo como consecuencia de la reacción de los sulfuros (principalmente como piritita,  $FeS_2$ ) con el oxígeno atmosférico, proceso que ocurre frecuentemente en la superficie de los depósitos de estériles mineros. Las dosis de purín de cerdo aplicadas fueron las siguientes:  $1,7 L m^{-2}$  en julio y  $2,6 L m^{-2}$  en septiembre de purín bruto, y  $7 kg m^{-2}$  de estiércol en noviembre. La dosis de aplicación del purín bruto de cerdo se basó en la tasa agronómica establecida por el Real Decreto 261/1996 para evitar la contaminación de aguas subterráneas por nitratos. La dosis de aplicación de la fase sólida del purín se estimó en base a su contenido en carbono orgánico, con el propósito de elevar el mismo en la superficie del depósito de estériles en más de 5 g de C orgánico por kg de suelo. El estiércol se obtuvo por separación de la fase sólida del purín mediante un separador de fases, y se mantuvo al aire libre bajo condiciones ambientales durante un mes. Entre marzo y abril de 2012 se llevó a cabo la plantación y siembra de especies autóctonas fitoestabilizadoras (ilustración 19). Se plantaron con ahoyado manual, en mosaico y con un marco de plantación de 1 planta  $m^{-2}$ , las siguientes especies: *Atriplex halimus L.*, *Cistus albidus L.*, *Helichrysum stoechas (L.) Moench*, *Hyparrhenia hirta (L.) Stapf*, *Lavandula dentata L.*, *Lygeum spartum (L.) Kunth.*, *Rosmarinus officinalis L.* y *Phagnalon saxatile (L.) Cass.*, con un total de 8174 individuos. Se sembraron además las siguientes especies, cubriendo toda la superficie del depósito: *Cynodon dactylon (L.) Pers.*, *Dittrichia viscosa (L.) Greuter*, *Piptatherum miliaceum (L.) Coss*, *Sonchus tenerrimus L.* y *Limonium caesium (Girard.) Kuntze*, con un total de 23240 g de semillas.

Para llevar a cabo un seguimiento de la evolución de la calidad del suelo y del desarrollo vegetal, en cada una de las zonas se establecieron cuatro parcelas experimentales de 10 m x 10 m. En cada una de estas parcelas se llevó a cabo un muestreo en enero de 2014 (30 meses después de la primera aplicación de enmiendas) (ilustración 20) para monitorizar los cambios a medio plazo en las propiedades del suelo, inmovilización de metales, cobertura de la vegetación (ilustraciones 21 y 22) y acumulación de metales/metaloides en la

vegetación tras la estrategia de rehabilitación desarrollada. En el muestreo se tomaron tres muestras de suelo por parcela a dos profundidades diferentes: 0-15 cm (S30) y 15-30 cm (P30). Las muestras se llevaron al laboratorio, se secaron al aire durante una semana y se tamizaron a un tamaño < 2 mm.

Tabla 3. Principales características del purín de cerdo bruto (PC), del estiércol porcino (EP) y del lodo de mármol (LM) empleados como enmiendas (<l.d.: inferior al límite de detección). (Zornoza et al., 2013b).

Propiedades	PC	EP	LM
pH	7,8	9,1	8,0
Conductividad eléctrica (dS m <sup>-1</sup> )	39,1	10,2	2,2
CaCO <sub>3</sub> (%)	-	-	98
Humedad (%)	96	10	1
Carbono orgánico total (g L <sup>-1</sup> / g kg <sup>-1</sup> )	17,8	170,8	-
Nitrógeno total (g L <sup>-1</sup> / g kg <sup>-1</sup> )	5,1	13,6	-
C/N	3,5	12,5	-
Cu (mg L <sup>-1</sup> / mg kg <sup>-1</sup> )	19,30	157,35	0,36
Zn (mg L <sup>-1</sup> / mg kg <sup>-1</sup> )	28,00	732,05	0,26
Fósforo disponible (mg L <sup>-1</sup> / mg kg <sup>-1</sup> )	623	9640	<l.d.
Calcio (mg L <sup>-1</sup> / mg kg <sup>-1</sup> )	249	855	2190
Magnesio (mg L <sup>-1</sup> / mg kg <sup>-1</sup> )	14,4	802	347
Sodio (mg L <sup>-1</sup> / mg kg <sup>-1</sup> )	459	4283	69
Potasio (mg L <sup>-1</sup> / mg kg <sup>-1</sup> )	1059	15662	59



Ilustración 13. Santa Antonieta en el año 2007 (izda.) y en el año 2014 (dcha.). Fuente: GoogleEarth





Ilustración 14. Muestreo inicial (noviembre de 2010)



Ilustración 15. Nivelación del terreno (marzo de 2011).



Ilustración 16. Aplicación de purín de cerdo (julio de 2011).



Ilustración 17. Aplicación de estiércol porcino (noviembre de 2011).



Ilustración 18. Aplicación de lodo de mármol (julio de 2011).



Ilustración 19. Plantación (marzo-abril de 2012)



Ilustración 20. Muestreo enero 2014: suelo (izda.); planta (dcha.).

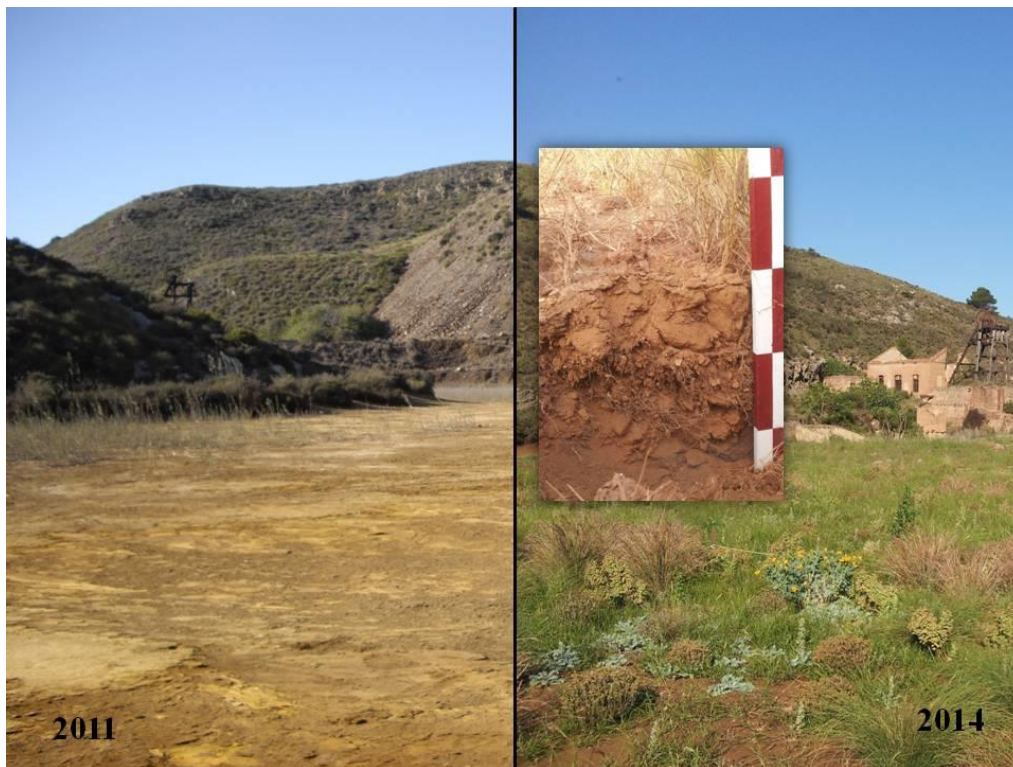


Ilustración 21. Santa Antonieta en el año 2011 (izda.) y en enero de 2014 (dcha.).



Ilustración 22. Cobertura vegetal en enero de 2014.

### 3.3 MÉTODOS DE ANÁLISIS.

#### 3.3.1 Análisis físico-químicos del suelo.

El pH y la conductividad eléctrica (CE) se midieron en agua desionizada (relación 1:2,5 y 1:5 p/v, respectivamente) mediante un pH-metro Crison GLP21 y un conductímetro Crison GLP 31. La textura se determinó usando el método de la pipeta Robinson combinado con tamizado. La estabilidad de agregados (EA) se determinó mediante el método propuesto por USDA (1999). Para analizar la densidad aparente se empleó el método del cilindro (Campbell y Hensall, 1991). El carbono total (CT) y el nitrógeno total (NT) se determinaron con un analizador elemental CNHS-O (EA-1108, Carlo Elba). El carbonato cálcico equivalente se determinó mediante un calcímetro de Bernard. El carbono orgánico se calculó como la diferencia entre el carbono total y el carbono inorgánico (CI). La capacidad de intercambio catiónico (CIC) se determinó mediante el método de Roig et al. (1980), usando  $\text{BaCl}_2$  como sal saturante del complejo de cambio. El fósforo asimilable (P) se analizó mediante el método de Buriel-Hernando (Díez, 1982). El potasio intercambiable (K) se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (AAAnalyst 800, Perkin Elmer) en el extracto del  $\text{BaCl}_2$  procedente de la determinación de la CIC (Chapman, 1965). El contenido total de metales pesados y metaloides (As, Cd,

Cu, Pb y Zn) se determinó mediante una digestión con  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  a  $210^\circ\text{C}$  durante 1,5 h (Risser y Baker, 1990). La fracción biodisponible de los metales se midió empleando pentaacetato de dietilentriamina (DTPA) (relación 1:2 suelo/extractante). La fracción soluble de metales se determinó con agua MilliQ, en un ratio 1:5 suelo:MilliQ (Ernst, 1996). La fracción intercambiable se determinó con  $\text{CaCl}_2$  0,01M, en una relación 1:10 suelo/extractante (Pueyo et al., 2004). La concentración de metales se midió en ICP- MS (Agilent 7500 CE). Las concentraciones de los patrones para la recta de calibrado de todos los metales fueron: 0, 2, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 500 y 1000  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Si la concentración de la muestra era mayor que la del patrón más alto, se realizó una dilución. Los límites de detección del equipo fueron: 0,07  $\mu\text{g L}^{-1}$  para el As, 0,02  $\mu\text{g L}^{-1}$  para el Cd, 0,21  $\mu\text{g L}^{-1}$  para el Cu, 0,35  $\mu\text{g L}^{-1}$  para el Pb y 0,96  $\mu\text{g L}^{-1}$  para el Zn. La metodología para la concentración total de metales se referenció usando el material certificado de referencia BAM-U110 (Federal Institute for Materials Research and Testing, Alemania). Las ratios de recuperación fueron 95-112% para el As, 96-126% para el Cd, 97-115% para el Cu, 95-106% para el Pb y 82-98% para el Zn.

### 3.3.2 Análisis bioquímicos del suelo.

La actividad  $\beta$ -glucosidasa se determinó mediante el método propuesto por Tabatabai (1982), basado en la determinación del *p*-nitrofenol liberado después de la incubación del suelo con *p*-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranosido. La actividad arilsulfatasa se determinó según Tabatabai y Bremner (1970), determinando la cantidad de *p*-nitrofenol liberado tras la incubación del suelo con *p*-nitrofenil sulfato. La actividad ureasa se analizó mediante el método de Nannipieri et al. (1980), basado en la determinación del amonio liberado tras la incubación del suelo con urea. La respiración edáfica basal se determinó por el método de Anderson (1982), según el cual la medida del  $\text{CO}_2$  producido se cuantifica en laboratorio con una trampa de NaOH. Finalmente, se lleva a cabo una valoración con HCl 0,1 N del NaOH que no ha reaccionado con el  $\text{CO}_2$ .

### 3.3.3 Análisis de planta.

Todas las especies de plantas de las parcelas fueron identificadas para estimar la riqueza vegetal. La cobertura vegetal se estimó como el porcentaje de la superficie total de la parcela cubierta de vegetación. Para calcular la biodiversidad se empleó el índice de Shannon-Weaver,  $H'$  (Shannon y Weaver, 1963) (ecuación 4).

$$H' = - \sum_{i=1}^s P_i * \log_2 P_i$$

Ecuación 4. Índice de Shannon-Weaver (Shannon y Weaver, 1963).

Donde  $s$  es el número de especies (riqueza) y  $P_i$  es la abundancia relativa de la especie (proporción de individuos de la especie con respecto al total de individuos,  $n_i/N$ ).

De cada una de las parcelas se seleccionaron las siguientes especies: *A. halimus*, *C. albidus*, *H. stoechas*, *H. hirta*, *L. dentata*, *L. spartum*, *L. caesium*, *P. saxatile* y *P. miliaceum*, y se arrancó un ejemplar por parcela. A continuación cada ejemplar vegetal se separó en raíz, tallo y hojas, excepto en las gramíneas (*H. hirta*, *L. spartum* y *P. miliaceum*) y en *L. caesium* que se separaron en raíz y parte aérea. Todas las muestras recogidas se lavaron con agua destilada, se secaron en estufa a 60°C durante 48 h y se molieron en molinillo. Para determinar la bioacumulación de metales por las plantas, tras la molienda, 0,7 g de cada muestra se calcinaron en una mufla a 480°C durante 12 h. Las cenizas se suspendieron y filtraron en 25 mL de HNO<sub>3</sub> 0,6N. Los metales pesados Cd, Cu, Pb y Zn y el metaloide As se determinaron mediante ICP-MS (Agilent 7500 CE). El factor de bioacumulación se calculó según la ecuación 5.

$$FB = \frac{[metal]_{parte\ aérea}}{[metal\ biodisponible]_{suelo}}$$

Ecuación 5. Factor de bioacumulación.

### **3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

El ajuste de los datos a una distribución normal para todas las propiedades se verificó con el test de Kolmogorov-Smirnov. Se llevó a cabo un ANOVA de un factor para evaluar las diferencias encontradas en función del tiempo y de la profundidad de muestreo. La separación de las medias se efectuó según el test post-hoc de Turkey a un nivel de significación  $P < 0,05$ . El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa IBM SPSS para Windows, versión 22.

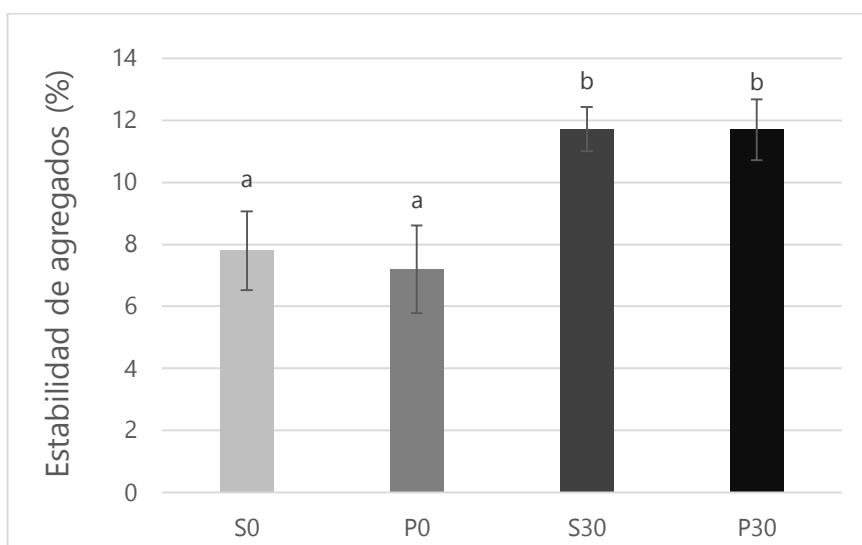


## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 PARÁMETROS FÍSICOS DEL SUELO.

#### 4.1.1 Estabilidad de agregados.

La estabilidad de los agregados se define como la capacidad de los mismos de mantener su forma al someterse a fuerzas inducidas artificialmente, concretamente a aquellas derivadas de la humectación, impacto de las gotas de lluvia o el paso de agua o a un determinado proceso dispersivo (Porta et al., 2003), y puede emplearse como indicador de la resistencia del suelo a la erosión hídrica, a la formación de costras superficiales y a la compactación (en definitiva, como un indicador general de su calidad) (Zornoza et al., 2013b). De acuerdo con Six et al. (2004), constituye una vía para la estabilización y retención a largo plazo del carbono en el suelo.



**Figura 2. Estabilidad de agregados en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

La estabilidad de agregados fue muy similar en superficie y profundidad para el mismo muestreo (figura 2), con incrementos significativos tras la aplicación de enmiendas. En las muestras superficiales, la estabilidad de agregados aumentó desde 7,8% para S0 hasta 11,7% para S30, mientras que en profundidad el incremento tuvo lugar desde 7,2% para P0 hasta 11,7% para P30.

Kabas et al. (2014b) obtuvieron resultados similares tras aplicar lodo de mármol y purín de cerdo en dos depósitos mineros, que posteriormente fueron colonizados espontáneamente por especies pioneras. Estos autores encontraron diferencias significativas entre las parcelas enmendadas y las que actuaron como control. Zanuzzi et al. (2009) incluyeron en su estudio la aplicación de lodo de depuradora, documentando un incremento de la estabilidad de agregados del 11% con la aplicación de las tres enmiendas.

De acuerdo con Porta et al. (2003), algunos de los factores implicados en la formación de agregados son el contenido de MO, la presencia de plantas y la actividad microbiana del suelo. Los agregados se encuentran unidos entre sí por diferentes componentes orgánicos e inorgánicos del suelo, en función de su tamaño: raíces y micorrizas (macroagregados), sustancias cementantes orgánicas e inorgánicas (agregados de tamaño medio) y células bacterianas y partículas de arcilla (microagregados) (Oades y Waters, 1991).

La MO puede incrementar significativamente la estabilidad de agregados del suelo. Según Krull et al. (2004), numerosos estudios han demostrado un incremento lineal de la estabilidad y el tamaño de los agregados con el aumento del contenido de MO. Kabas et al. (2014b) atribuyeron el incremento de la estabilidad de agregados a la generación de fuerzas cohesivas por interacción entre la vegetación y los organismos situados en el entorno radicular. De acuerdo con Porta et al. (2003), los microorganismos pueden segregar como producto de su actividad sustancias mucilaginosas, capaces de unir las partículas del suelo por adsorción. Según este autor, en suelos calizos

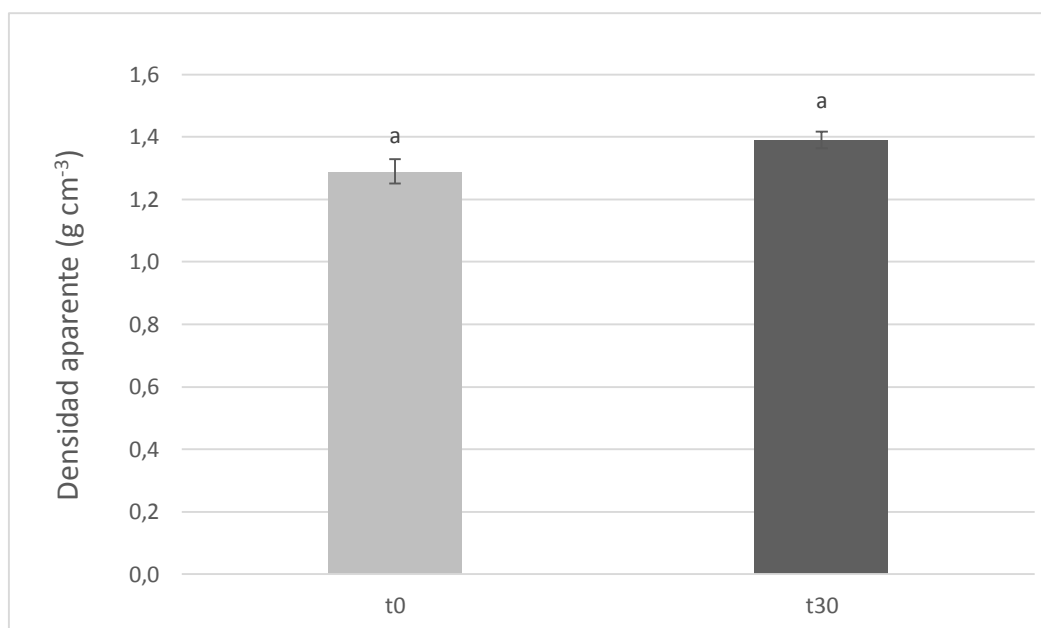
el carbonato cálcico también puede actuar como agente estabilizante de los microagregados.

Teniendo en cuenta todo lo comentado, podemos afirmar que el purín y el estiércol de cerdo, junto con el lodo de mármol, son efectivos en la formación de nuevos agregados y que la MO procedente de la vegetación y la comunidad microbiana que se ha ido desarrollando a lo largo del tiempo también han contribuido a mejorar la estructura del suelo. La formación de agregados estables contribuye a incrementar la porosidad, la capacidad de retención de agua, posibilita el establecimiento de las raíces, el crecimiento de una comunidad microbiana, favorece la actividad de la fauna del suelo, reduce la compactación y erosión y evita el sellado del suelo y la formación de costras superficiales (Porta et al., 2003; Zornoza et al., 2013b).

### **4.1.2 Densidad aparente.**

La densidad aparente del suelo representa el peso de suelo seco en un determinado volumen, incluyendo los espacios porosos. Da una idea del grado de compactación del suelo (reducción del espacio poroso no capilar, responsable del drenaje rápido del exceso de agua y, por tanto, de la aireación del suelo).

Este parámetro es un buen indicador de la calidad del suelo, ya que a partir de él podemos predecir la facilidad de penetración de las raíces, su capacidad de crecimiento, el movimiento del agua en el suelo y su porosidad.



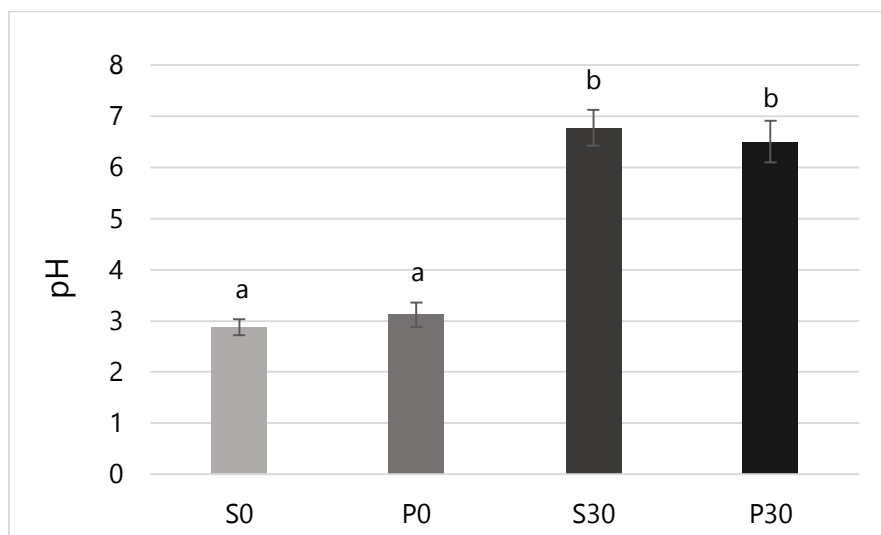
**Figura 3. Densidad aparente en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

Como podemos observar en la figura 3, la densidad aparente no varió de forma significativa tras la adición de enmiendas. Las medias fueron  $1,29 \text{ g cm}^{-3}$  en el muestreo inicial y  $1,39 \text{ g cm}^{-3}$  treinta meses después de enmendar el suelo.

La densidad aparente depende de la textura del suelo, de su contenido en MO y del grado de compactación (que está directamente relacionado con la porosidad). Las partículas de los suelos de textura fina suelen estar organizadas formando agregados, más abundantes cuanto mayor es el contenido de MO. Por ello, cuando se adicionan materiales orgánicos a estos suelos, la porosidad aumenta y la densidad aparente disminuye. Por el contrario, la fracción granulométrica gruesa de los suelos arenosos y franco-arenosos (como es nuestro caso) no tiene alta capacidad para formar agregados con la MO. Por ello, debido al menor contenido en materiales arcillosos de estos suelos, ante una adición de MO, aunque se incrementa la porosidad, no lo hace tanto como para producir variaciones significativas en la densidad aparente (Brady, 1984).

## 4.2 PARÁMETROS QUÍMICOS DEL SUELO.

### 4.2.1 pH

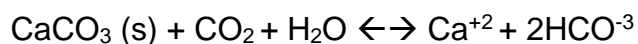


**Figura 4. pH en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

La figura 4 muestra la reducción de la acidez del suelo tras la aplicación de enmiendas. En superficie, el pH se incrementó desde 2,9 hasta 6,8, mientras que en profundidad el incremento tuvo lugar desde 3,1 hasta 6,5. No se encontraron diferencias significativas entre las muestras de superficie y profundidad para el mismo muestreo.

Este aumento de pH se ha producido debido a la adición de lodo de mármol al suelo (Zornoza et al., 2013b). Kabas et al. (2012) aplicaron conjuntamente y por separado lodo de mármol y purín de cerdo en diferentes parcelas de un depósito de la Sierra Minera de Cartagena-La Unión. Los resultados mostraron que los mayores valores de pH se daban en aquellas parcelas que habían sido enmendadas con lodo de mármol.

De acuerdo con Zanuzzi et al. (2009), la disolución de la calcita según la ecuación 6, proporciona aniones bicarbonato que neutralizan la acidez procedente de la oxidación de sulfuros:

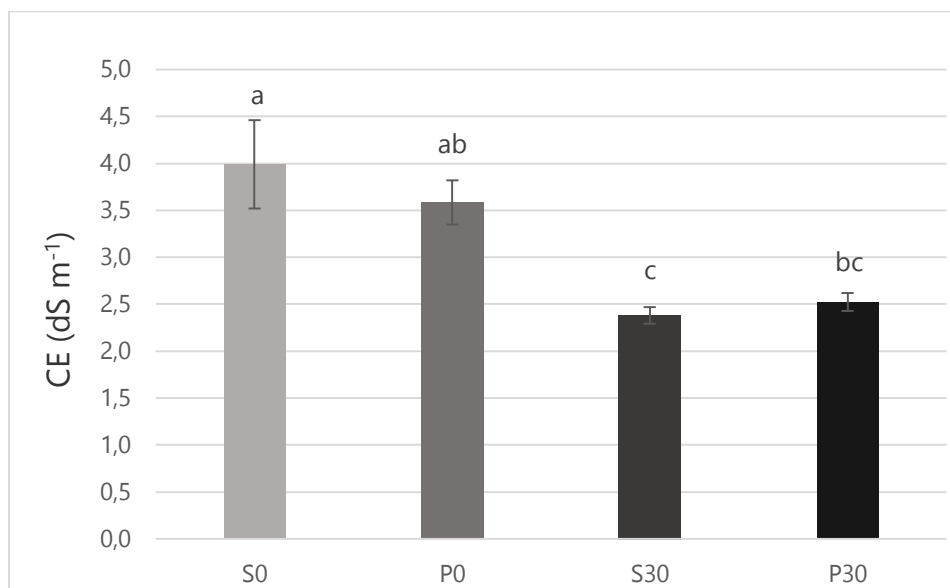


Ecuación 6. Disolución de calcita en el suelo (Zanuzzi et al., 2009).

Además, la fina granulometría del lodo de mármol proporciona una superficie específica mayor para la adsorción de protones, contribuyendo a aumentar el pH (Fernández-Caliani y Barba-Brioso, 2010). Yang et al. (2010) demostraron el efecto adicional de la vegetación en la reducción de la acidez del suelo. Las plantas son capaces de alterar las propiedades de la rizosfera mediante asimilación, producción de aniones/cationes y liberación de ácidos orgánicos (Jones et al., 2004 citado en Yang et al., 2010).

Reducir la acidez del suelo es el primer paso para facilitar la emergencia y crecimiento de las plantas. El pH del suelo afecta al crecimiento vegetal principalmente debido al efecto sobre la solubilidad de los contaminantes y los nutrientes (Wong, 2003). Conesa et al. (2007b) documentaron un crecimiento estacional más estable de especies pioneras en suelos mineros neutros que en suelos ácidos.

#### 4.2.2 Conductividad eléctrica.



**Figura 5. Conductividad eléctrica (CE) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

La CE mostró un descenso significativo en las muestras superficiales, con  $4,00 \text{ dS m}^{-1}$  y  $2,38 \text{ dS m}^{-1}$  en los muestreos inicial y final, respectivamente (figura 5). En profundidad los valores también descendieron (desde  $3,6 \text{ dS m}^{-1}$  hasta  $2,52 \text{ dS m}^{-1}$ ), sin mostrar diferencias significativas.

La exposición de sulfuros, principalmente pirita, a condiciones oxidantes da lugar a la liberación de aniones sulfato y cationes metálicos que aumentan la conductividad eléctrica de los depósitos mineros (Martínez y Pérez, 2007). En climas áridos y semiáridos, este hecho se ve favorecido por las escasas precipitaciones y alta tasa de evaporación del suelo (Munshower, 1994).

La adición de lodo de mármol en el depósito Santa Antonieta ha propiciado una reducción significativa de la CE del suelo, mediante la reacción del  $\text{Ca}^{+2}$  procedente del  $\text{CaCO}_3$  con los sulfatos, formando precipitados estables y disminuyendo así la concentración de sulfatos en la solución del suelo (Fernández-Caliani y Barba-Brioso, 2010). Estos autores documentaron

la presencia de cristales de yeso en suelos mineros enmendados con lodo de mármol, formados tras la saturación de la solución del suelo por sulfatos de calcio, según la ecuación 7.



Ecuación 7. Reacción de formación de cristales de yeso (Fernández-Caliani y Barba-Brioso, 2010).

Adicionalmente, al aumentar el pH, otros iones presentes en la solución del suelo pueden precipitar (Brallier et al., 1996), contribuyendo así a la reducción de la CE.

Párraga-Aguado et al. (2013) mostraron que la CE, relacionada con la concentración de aniones sulfato y cloruro, fue el factor que controló la colonización y distribución de la vegetación en dos depósitos de la Sierra Minera de Cartagena-La Unión. Altos valores de conductividad eléctrica tienen efectos tóxicos para las plantas (Pardo et al., 2011), debido a que las sales afectan negativamente a su metabolismo y a la permeabilidad de membranas celulares (Ye et al., 2002 citado en Pardo et al., 2011), quedando inhibidos el crecimiento y la germinación de las semillas.

### 4.2.3 Carbono orgánico.

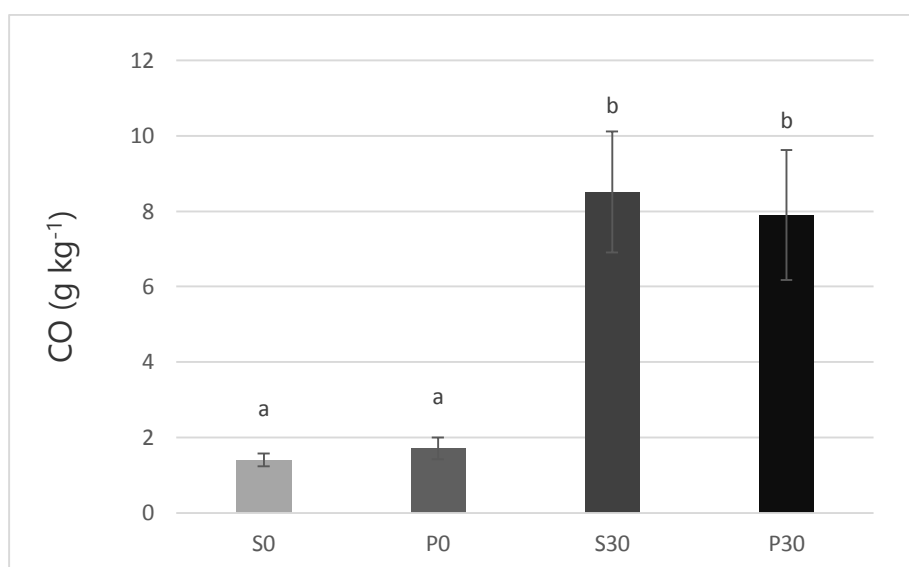
La materia orgánica contenida en el suelo (MOS) es un parámetro difícil de medir, puesto que está constituida por diversos bioelementos primarios (C, H, O, N, S, P) cuya estimación debe realizarse mediante análisis independientes. El principal componente de la MOS es el carbono (de ahora en adelante, carbono orgánico, CO) (Martínez et al., 2008). Por ello, es este elemento el que se emplea como indicador del contenido de materia orgánica, aplicando un factor de conversión al valor obtenido para conocer la MOS (Krull et al., 2004).

El CO es un componente muy importante del ciclo del carbono, constituyendo un 69,8% de carbono orgánico de la biosfera (FAO, 2001). Se



encuentra en forma de residuos poco alterados de vegetales, animales y microorganismos y en formas muy condensadas cercanas al carbono elemental (Jackson, 1964 citado en Martínez et al., 2008). Muchos estudios han demostrado la influencia del CO en determinadas propiedades físicas (estructura, estabilidad de agregados, capacidad de retención de agua), químicas (pH, CIC) y bioquímicas (fuente de energía) del suelo (e.g. Ottenhof et al., 2007; Pardo et al., 2011; Kabas et al., 2014a).

El carbono orgánico en el depósito Santa Antonieta aumentó significativamente con los tratamientos llevados a cabo (figura 6). En superficie, la media aumentó desde 1,4 g kg<sup>-1</sup> (S0), hasta 8,5 g kg<sup>-1</sup> (S30), mientras que en profundidad ascendió desde 1,7 g kg<sup>-1</sup> (P0), hasta 7,9 g kg<sup>-1</sup> (P30). No se encontraron diferencias significativas entre los valores de superficie y profundidad para un mismo muestreo.

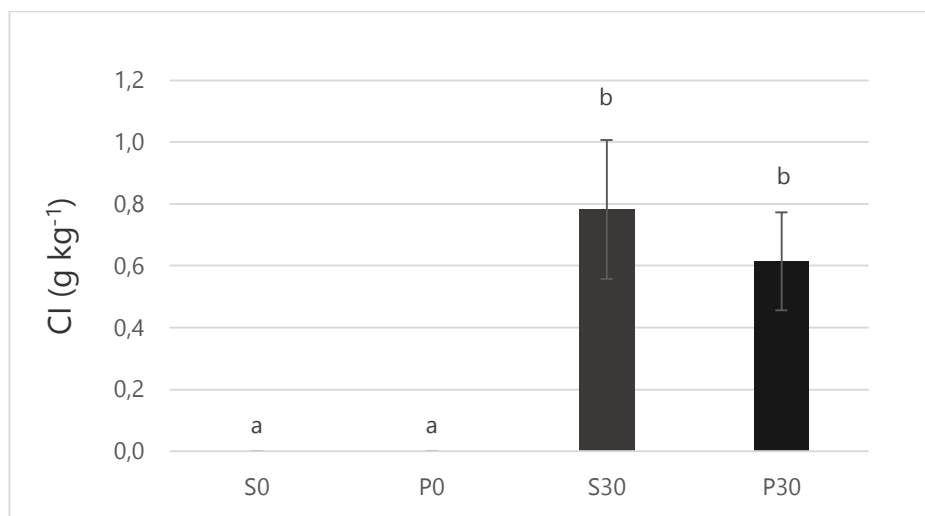


**Figura 6. Concentración media carbono orgánico (CO) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . S0: superficie inicial; P0: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

El CO que se ha ido acumulando en el tiempo comprendido entre los dos muestreos puede provenir de diversas fuentes:

- El purín y estiércol de cerdo. La participación del purín y estiércol en el aumento del CO tuvo lugar principalmente durante las primeras etapas del proyecto (Carmona et al., 2011), pues contiene un alto porcentaje de carbono lábil (Kabas et al., 2012). A pesar de ello, de acuerdo con Zornoza et al. (2013a), la aplicación conjunta de lodo de mármol y purín de cerdo estabiliza la MOS, reduciendo su mineralización, y por tanto su estabilización en el suelo.
- La población vegetal, mediante la descomposición de raíces, hojas y otros materiales vegetales y mediante su actividad radicular. Ottenhof et al. (2007) estudiaron la contribución de especies pioneras en la colonización de algunos depósitos mineros de la Sierra de Cartagena, al aumento del contenido de MOS y a la composición de la misma. Los resultados mostraron que la concentración de CO era mayor en las parcelas que contenían vegetación.
- Los microorganismos edáficos. Parte de los microorganismos que han contribuido al aumento del CO han sido aportados junto con el purín y estiércol de cerdo (Zornoza et al., 2013a), pero a su vez, las enmiendas orgánicas y la MO procedente de la vegetación han promovido la creación de un ambiente favorable para el desarrollo de una población microbiana mayor, responsable de la estabilización de la MO en los suelos (Ottenhof et al., 2007).

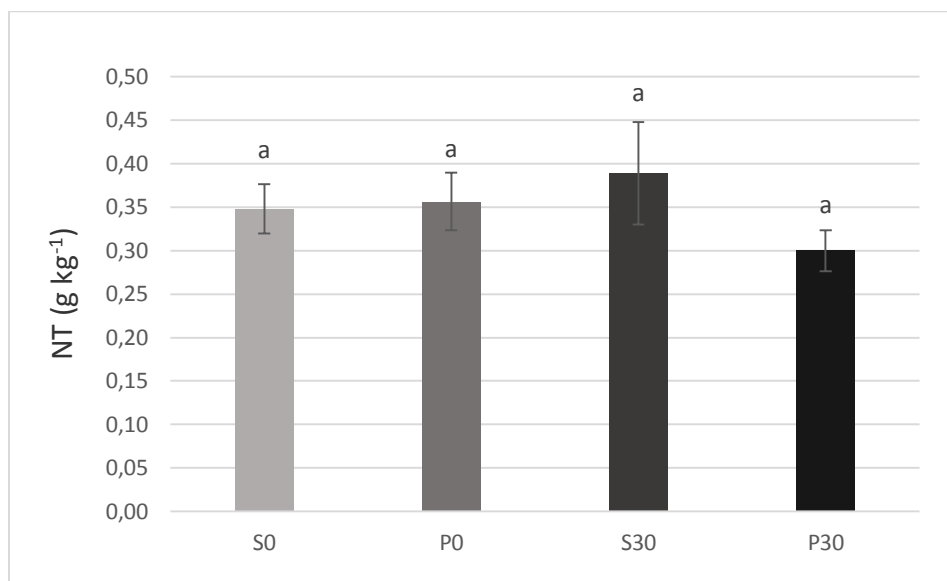
#### 4.2.4 Carbono inorgánico.



**Figura 7. Concentración media de carbono inorgánico (CI) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

El carbono inorgánico corresponde a la fracción del carbono total del suelo procedente de los carbonatos. Inicialmente, el suelo carecía totalmente de carbono inorgánico (figura 7). La aplicación de lodo de mármol aumentó su concentración hasta  $0,78 \text{ g kg}^{-1}$  y  $0,61 \text{ g kg}^{-1}$  en superficie y profundidad, respectivamente. Aunque no se encontraron diferencias significativas entre los dos valores, el menor contenido en profundidad puede deberse a una incompleta homogeneización de la enmienda en los primeros 50 cm del suelo. Estos resultados reflejan el alto contenido de carbonatos del lodo de mármol empleado (98%).

## 4.2.5 Nitrógeno total.



**Figura 8. Concentración media de nitrógeno total (NT) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

Como puede observarse en la figura 8, no se han encontrado diferencias significativas entre los valores iniciales y finales de NT y tampoco entre las muestras superficiales y de profundidad. Las concentraciones iniciales fueron: 0,35 y 0,36 g kg<sup>-1</sup> en superficie (S0) y profundidad (P0), respectivamente. Las concentraciones finales fueron 0,39 y 0,30 g kg<sup>-1</sup>, para S30 y P30, respectivamente.

De acuerdo con Carmona et al. (2011) el NT alcanzó la concentración máxima en superficie un año después de la aplicación de las enmiendas (0,91 g kg<sup>-1</sup>). Las muestras de profundidad alcanzaron su máximo transcurridos seis meses (0,59 g kg<sup>-1</sup>). A partir de entonces, ha tenido lugar un descenso progresivo de la concentración de NT en el perfil del suelo. Kabas et al. (2014b) obtuvieron resultados similares en dos depósitos de la Sierra Minera de Cartagena-La Unión tratados con las mismas enmiendas empleadas en Santa Antonieta. En ambos, el tratamiento con purín de cerdo junto con lodo de

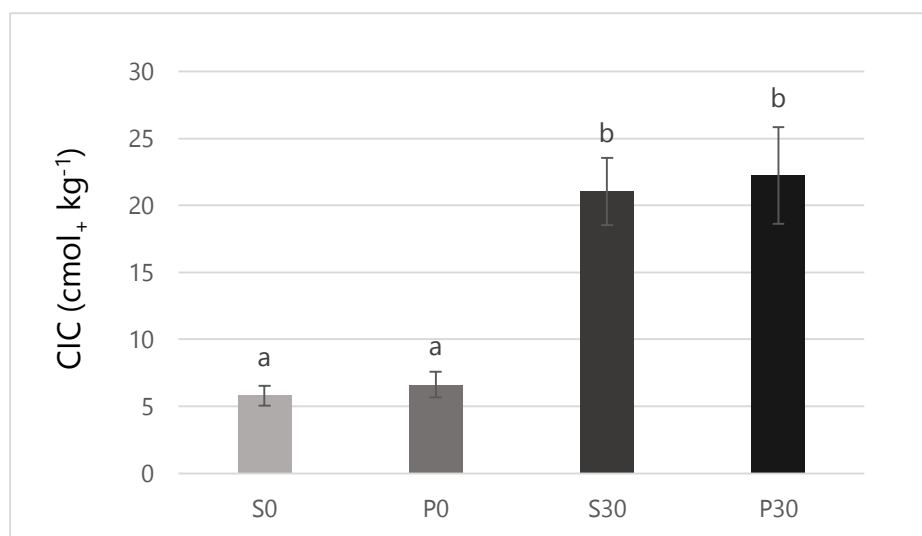
mármol fue el que más incrementó el NT, alcanzando el máximo a los 6 meses en ambos depósitos, para luego descender en el muestreo posterior. Esta reducción puede deberse a la incorporación de este nutriente por las plantas y a su inmovilización por los microorganismos edáficos (Carmona et al., 2011). El purín de cerdo es rico en nutrientes, principalmente N, por lo que ha sido recomendado por numerosos autores para su empleo en proyectos de rehabilitación de suelos mediante fitoestabilización asistida (e.g. Kabas et al., 2014b; Pardo et al., 2011, 2014; Zornoza et al., 2012a), ya que incrementa la fertilidad del suelo. Una vez que el NT aportado por las enmiendas orgánicas es utilizado por plantas y microorganismos, el aporte natural de este elemento puede tener lugar a través de las lluvias, la fijación no simbiótica o simbiótica, o mediante mineralización de restos orgánicos de vegetales y animales. Los dos primeros aportes son de escasa cuantía ( $10\text{-}20\text{ kg ha}^{-1}\text{ año}^{-1}$ ), por lo que la fijación de N por bacterias simbióticas y por aportación de restos orgánicos es de gran importancia. El N es un elemento esencial en el crecimiento vegetal: es constituyente de moléculas como la clorofila, aminoácidos esenciales, proteínas, enzimas, nucleoproteínas, hormonas y ATP, además de intervenir en diferentes procesos metabólicos. Debido a esto, las plantas requieren elevadas cantidades de N (Perdomo et al., 2001). Los microorganismos emplean C como fuente de energía para su metabolismo y N para formar sus propios componentes celulares. El C es el elemento más abundante en los restos vegetales, sin embargo el N suele ser el factor limitante por el que compiten plantas y microorganismos. Aunque se ha observado que el purín de cerdo es efectivo a la hora de mejorar la fertilidad del suelo, y la vegetación también constituye una fuente de N (Yang et al., 2010), el descenso de NT observado treinta meses después de la aplicación de enmiendas en Santa Antonieta sugiere la necesidad de un aporte adicional de este elemento.

Kabas et al. (2014a) estudiaron la influencia de *Z. fabago* en las propiedades edáficas de dos suelos mineros en el SE español, enmendados con purín de cerdo y lodo de mármol. Estos autores obtuvieron concentraciones hasta 27 veces mayores de NT en la rizosfera de *Z. fabago* en comparación con el suelo control. Esta especie ha demostrado ser tolerante a

la sequía y a la salinidad, así como a altas concentraciones de metales pesados, colonizando espontáneamente varias balsas de estériles de la Sierra Minera (tabla 5). *Calicotome intermedia* (C. Presl) y *Dorycnium pentaphyllum* (Scop.) son dos especies leguminosas que se desarrollan en los alrededores de algunos depósitos de la Sierra Minera (Acosta et al., 2011; Kabas et al., 2012). Párraga-Aguado et al. (2013) encontraron individuos de *D. pentaphyllum* en el depósito minero Agustín, situado en el distrito minero de Cartagena-La Unión. De acuerdo con Perdomo et al. (2001), cuando en un suelo se desarrollan gramíneas junto con leguminosas, ante una deficiencia de N, las leguminosas se desarrollarán más que las gramíneas por su capacidad para fijar N mediante bacterias simbióticas, pero parte del N fijado se transferirá a las gramíneas, con el consiguiente beneficio de toda la comunidad vegetal. Una posible solución, de cara a establecer un aporte autosuficiente de NT en Santa Antonieta, podría ser la introducción de *Z. fabago* y de especies leguminosas como *C. intermedia* o *D. pentaphyllum*, aunque se requeriría, por un lado, un seguimiento temporal de la evolución del NT en el suelo, para establecer si la estrategia con *Z. fabago* es efectiva y por otro, comprobar si las dos especies leguminosas citadas anteriormente son capaces de desarrollarse en el depósito. Aun así, *Z. fabago* se considera una especie invasora en la Península Ibérica. Conesa et al. (2011a) señalaron la necesidad de monitorear la evolución de los ecosistemas en los que se introduce esta especie, para comprobar su sostenibilidad a largo plazo.

### **4.2.6 Capacidad de intercambio catiónico.**

La CIC determina la cantidad de cargas negativas existentes en los coloides del suelo por unidad de masa del mismo. Se define como la medida de la capacidad total de un suelo de contener cationes intercambiables (Peverill et al., 1999). Esta propiedad es determinante para el desarrollo de la vegetación, ya que contribuye a la capacidad de los suelos de retener nutrientes necesarios para las plantas (Krull et al., 2004).



**Figura 9. Capacidad de intercambio catiónico (CIC) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

Como puede observarse en la figura 9, la CIC aumentó significativamente en Santa Antonieta (desde 5,8 hasta 21,0  $\text{cmol}_+ \text{kg}^{-1}$  y desde 6,6 hasta 22,3  $\text{cmol}_+ \text{kg}^{-1}$  en las muestras superficiales y de profundidad, respectivamente). Los valores de superficie y profundidad para un mismo tiempo de muestreo no mostraron diferencias significativas.

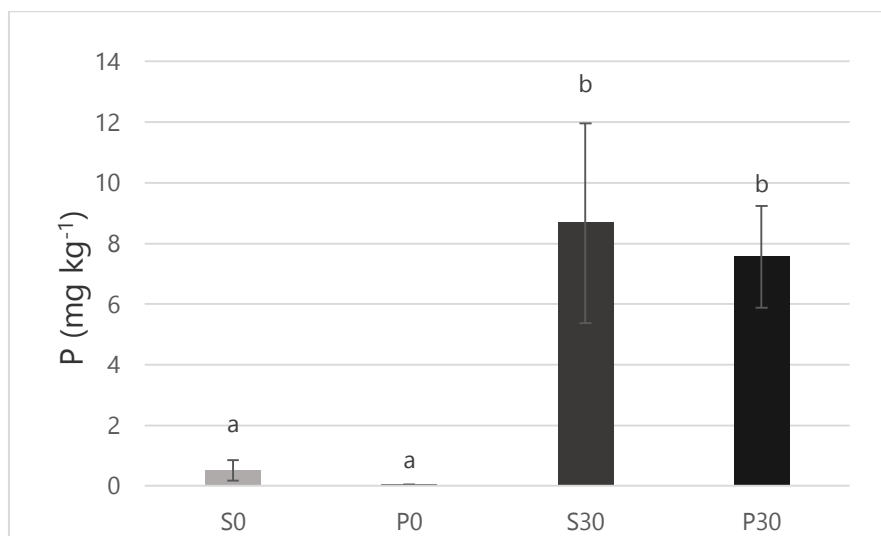
Son dos los componentes del suelo responsables de la CIC: los minerales de la arcilla y la materia orgánica. Los coloides inorgánicos del suelo (minerales de la arcilla y otros componentes mineralógicos como óxidos amorfos) varían poco en el suelo, por lo que contribuyen a lo que se conoce como capacidad de intercambio catiónico permanente (CICp). La CIC de estos compuestos oscila entre 2 y 150  $\text{cmol}_+ \text{kg}^{-1}$  de suelo. El contenido de MOS es muy variable y dependiente del manejo que se lleve a cabo en el suelo, por lo que contribuye a la capacidad de intercambio catiónico variable (CICv). La CIC de la MOS es aportada por los grupos carboxílicos, hidroxilo y ácidos fenólicos, que hacen que la carga global de la MOS sea negativa, pudiendo retener cationes de cambio (Krull et al., 2004; Parfitt et al., 1995).

El aumento significativo de la CIC ha tenido lugar como consecuencia de la adición de las enmiendas orgánicas y de los residuos vegetales incorporados al suelo, que han aportado más posiciones de cambio (Zornoza et al., 2013b). De acuerdo con Kabata-Pendias (2011), la fracción húmica es la que más contribuye al aumento de la CIC del suelo (hasta una media de un 50%). La CIC de las sustancias húmicas oscila entre 200 y 500 meq 100 g<sup>-1</sup> de suelo (mayor para los ácidos húmicos y menor para los ácidos fúlvicos).

Kabas et al. (2014b) observaron una clara correlación positiva entre la CIC del suelo y el contenido de CO aportado por el purín de cerdo en los depósitos mineros “El Lirio” y “El Gorguel”, situados en la Sierra Minera de Cartagena-La Unión. Ottenhof et al. (2007) estudiaron la influencia de la vegetación sobre la disponibilidad de nutrientes esenciales para las plantas en la Sierra Minera. Seleccionaron tres tipos de suelos: suelos mineros sin cobertura vegetal, suelos mineros colonizados espontáneamente por especies pioneras y suelos sin signos de actividad minera, cuya vegetación era tanto natural como resultante de reforestación. Estos autores concluyeron que aquellos suelos colonizados por plantas pioneras (*L. spartum* y *P. australis*), contenían más cationes disponibles para las plantas, lo que era debido a una mayor CIC. De este hecho se pueden extraer dos conclusiones: 1) la materia orgánica procedente de las plantas y la actividad radicular también contribuyen a aumentar la CIC, y 2) la CIC en los suelos naturales fue menor que en los suelos mineros con vegetación, por lo tanto la naturaleza de las especies vegetales también influye en la CIC. Ottenhof et al. (2007) atribuyeron esta mayor CIC a la acumulación de materia orgánica vegetal formada principalmente por compuestos derivados de la lignina (guayacol y siringol).



## 4.2.7 Fósforo asimilable.



**Figura 10. Concentración media de fósforo asimilable (P) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . S0: superficie inicial; P0: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

La concentración de P se incrementó significativamente con los tratamientos empleados (figura 10). En superficie, la concentración aumentó desde 0,50 hasta 8,67 mg kg<sup>-1</sup> y, en profundidad, desde 0,03 hasta 7,56 mg kg<sup>-1</sup>. No se observaron diferencias significativas entre muestras superficiales y de profundidad en ninguno de los muestreos.

La aplicación de purín y estiércol de cerdo ha beneficiado la disponibilidad de P en el suelo, debido a que éste es uno de los componentes principales de dichas enmiendas, junto con el N y el K. Pardo et al. (2014) estudiaron la efectividad de tres enmiendas y de la especie *A. halimus* en la fitoestabilización de un depósito en la Sierra Minera de Cartagena-La Unión. Las enmiendas (purín de cerdo, compost de alperujo y cal hidratada) se aplicaron por separado, dejando para cada tratamiento una parcela sin vegetación y otra plantada con *A. halimus*. La aplicación de purín de cerdo y de compost incrementó el P respecto al control y al tratamiento con cal hidratada. La concentración de P fue mayor en las parcelas en las que se había plantado

*A. halimus*, independientemente del tratamiento llevado a cabo. Este último hecho indica que no sólo las enmiendas orgánicas contribuyen a aumentar la disponibilidad de P en el suelo; el material vegetal descompuesto también es una fuente importante de P. Yang et al. (2010) obtuvieron resultados similares empleando en este caso estiércol de ave y cal hidratada. A lo largo de treinta meses, tras la aplicación de enmiendas, tuvo lugar un aumento significativamente rápido del contenido de P en el depósito.

En la figura 11, elaborada por El-Baruni y Olsen (1979), se muestra el efecto positivo de la adición de abono orgánico sobre la disponibilidad de P (concentración de P soluble que es el asimilado por las plantas), a pH 7,2:

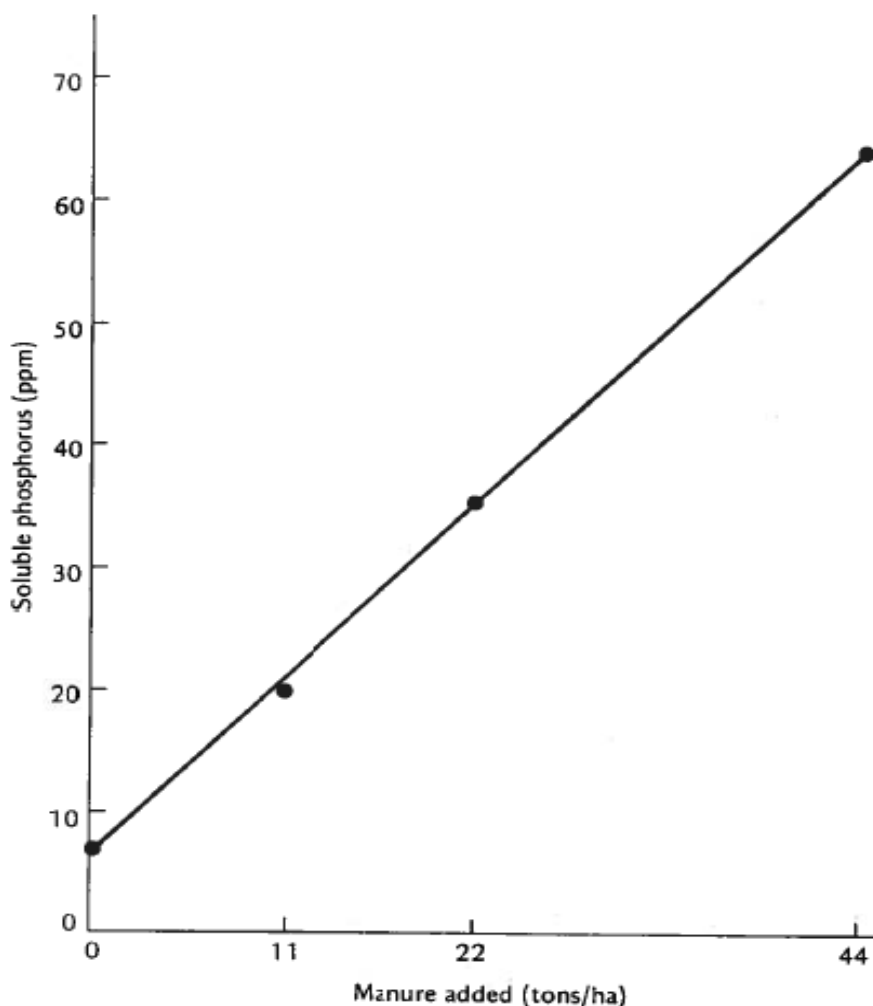
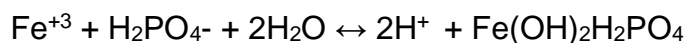


Figura 11. Concentración de fósforo soluble en el suelo, en función de la cantidad de estiércol añadido al suelo (El-Baruni y Olsen, 1979).

Las plantas absorben principalmente compuestos de P inorgánico y, en menor medida, de P orgánico, que se encuentran en la solución del suelo (Brady, 1984). El purín de cerdo contiene ambas formas. Se entiende por valor fertilizante de un elemento nutritivo la eficacia de dicho elemento aportado bajo una determinada forma de residuo orgánico, en comparación con un abono mineral de referencia. Todo el fósforo contenido en el purín de cerdo se puede comparar con un abono mineral, ya que la parte orgánica, a pesar de no estar directamente disponible para los cultivos, se mineraliza lentamente, transformándose en compuestos asimilables por las plantas. Es por ello que su valor fertilizante se considera del 100% respecto a un abono mineral (Irañeta et al., 2002).

En la mayoría de los suelos, el P disponible apenas excede el 0,01% del P total. En concreto, en suelos ácidos, comúnmente ricos en Fe, Al y Mn (como es el caso del depósito estudiado), los aniones fosfato que se encuentran en la solución del suelo forman complejos con los cationes de Fe, Al y Mn, dando lugar a hidroxifosfatos, insolubles y por lo tanto no disponibles para las plantas (ecuación 8):



Ecuación 8. Formación de hidroxifosfatos insolubles. (Brady, 1984).

Los aniones fosfato también pueden reaccionar, en un medio ácido, con óxidos hidratados de Fe, Al y Mn (por ejemplo, goethita,  $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), formando, al igual que en el caso anterior, hidroxifosfatos insolubles.

Los ácidos orgánicos que contienen P y el humus pueden formar compuestos insolubles con Fe, Al y Mn cuando la reacción del suelo es ácida. Este hecho constituye a la vez una ventaja y un inconveniente: la ventaja es que la interacción de los cationes metálicos con los fosfatos orgánicos aumenta la disponibilidad de fosfatos inorgánicos para las plantas. El inconveniente es que el fósforo orgánico queda retenido en los compuestos formados y por tanto inutilizable por parte de la vegetación. Por esta razón, la aplicación de cal o

compuestos que contengan  $\text{CaCO}_3$ , que muestran mayor afinidad por los metales, es esencial para aumentar la disponibilidad del fósforo en suelos ácidos (Brady, 1984). Según este autor, la máxima disponibilidad de fósforo tiene lugar en un rango de pH entre 6,0- 7,0.

La figura 12 muestra la clasificación del P en el suelo, en tres grupos principales (Brady, 1984):

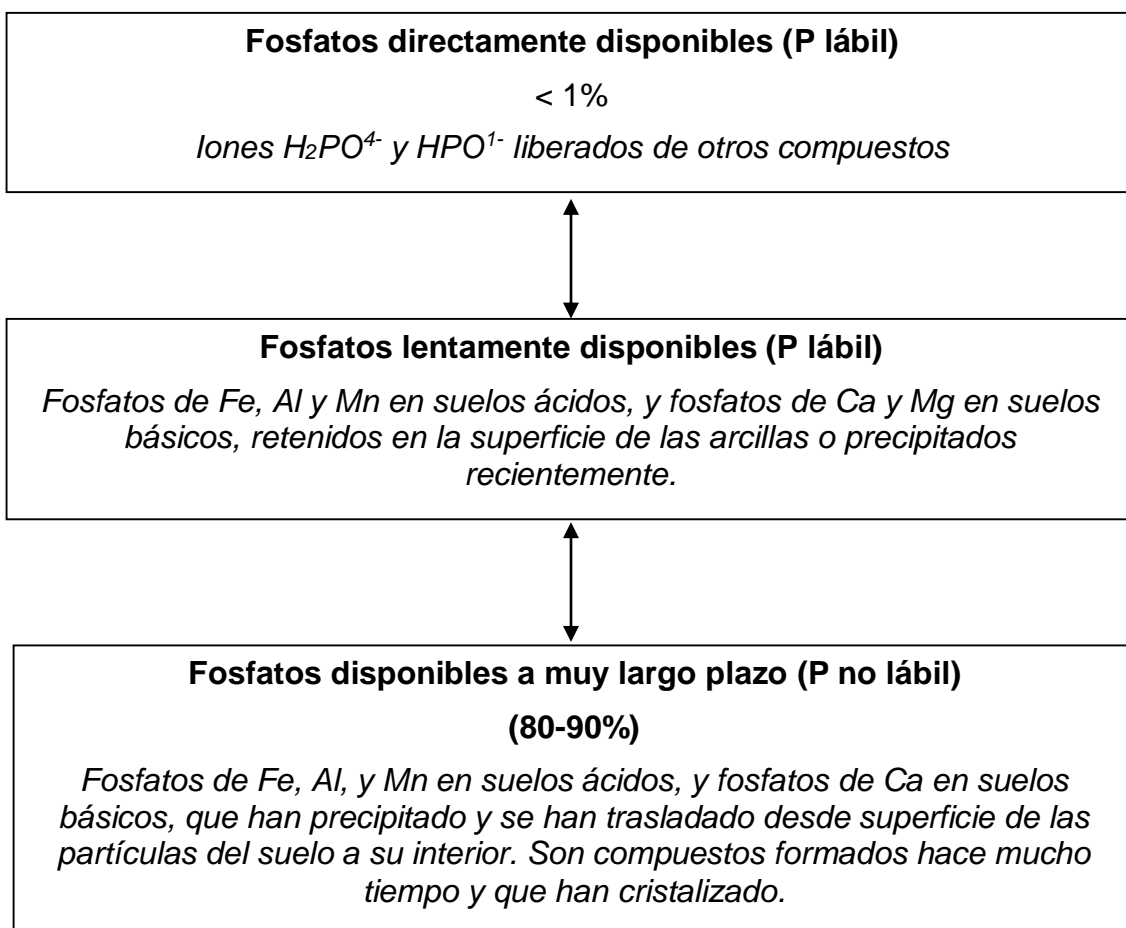
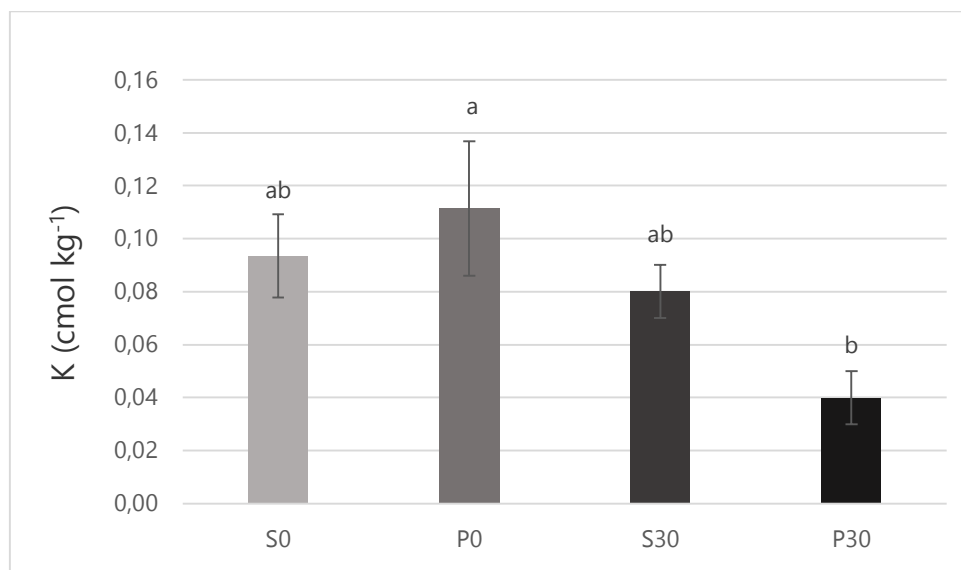


Figura 12. Formas en las que se encuentra el P en el suelo (Brady, 1984)

#### 4.2.8 Potasio intercambiable.



**Figura 13. Concentración media de potasio intercambiable (K) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

Como puede observarse en la figura 13, la concentración de K mostró un descenso significativo en profundidad. En superficie, no hubo diferencias significativas treinta meses después de la aplicación de las enmiendas. Las concentraciones iniciales fueron  $0,09 \text{ cmol kg}^{-1}$  en superficie (SO) y  $0,11 \text{ cmol kg}^{-1}$  en profundidad (PO). Tras la aplicación de enmiendas, las concentraciones fueron  $0,08$  y  $0,04 \text{ cmol kg}^{-1}$  en superficie (S30) y profundidad (P30), respectivamente.

El purín de cerdo es una fuente rica en K. Así lo demostraron los resultados de Zornoza et al. (2013b) para este mismo depósito, seis meses después de la aplicación de enmiendas. En dicho estudio, se observó un aumento significativo de K en superficie, aunque en profundidad no se obtuvieron diferencias significativas, probablemente debido a una incompleta homogeneización de las enmiendas.

De este modo, sabemos que la adición de enmiendas orgánicas fue efectiva a la hora de incrementar el K, por lo que la falta de diferencias obtenida 30 meses después de su aplicación se debe a otros factores. Pardo et al. (2014) observaron que las parcelas plantadas con *A. halimus* aumentaban significativamente su contenido en K, en comparación con aquellas que permanecían yermas. A pesar de que *A. halimus* es una de las especies con mayor número de individuos en Santa Antonieta, los resultados no coinciden con los de aquellos autores. *P. miliaceum*, perteneciente a la familia de las gramíneas, es la especie que más individuos ha presentado (casi 3000) (tabla 6). *H. hirta* y *L. spartum* presentaron entre 400-600 individuos. El sistema radicular de las gramíneas se desarrolla en los 20 primeros cm del suelo aproximadamente y está formado por dos tipos de raíces: primarias y secundarias. Éstas últimas presentan una morfología fasciculada o en “cabellera”, que tiende a desarrollarse muy cerca de la superficie del suelo (Benito, 2012), lo que les permite absorber más cantidad de nutrientes, como el K. Adicionalmente, las plantas que presentan menor CIC de las raíces son capaces de absorber más cantidad de K, mientras que aquellas cuya CIC radicular es alta tienden a absorber más  $Ca^{2+}$  (Hernández et al., 2010). Las especies monocotiledóneas (todas las gramíneas lo son) se caracterizan por una CIC radicular baja, por lo que su capacidad de absorción de K es más alta que la de las dicotiledóneas (por ejemplo las leguminosas) (Chirinos, 2001). Por lo tanto, la falta de variación de K en las muestras superficiales y la disminución en las de profundidad puede deberse a la incorporación de este nutriente por parte de las plantas, principalmente las gramíneas (*P. miliaceum*, *H. hirta* y *L. spartum*).

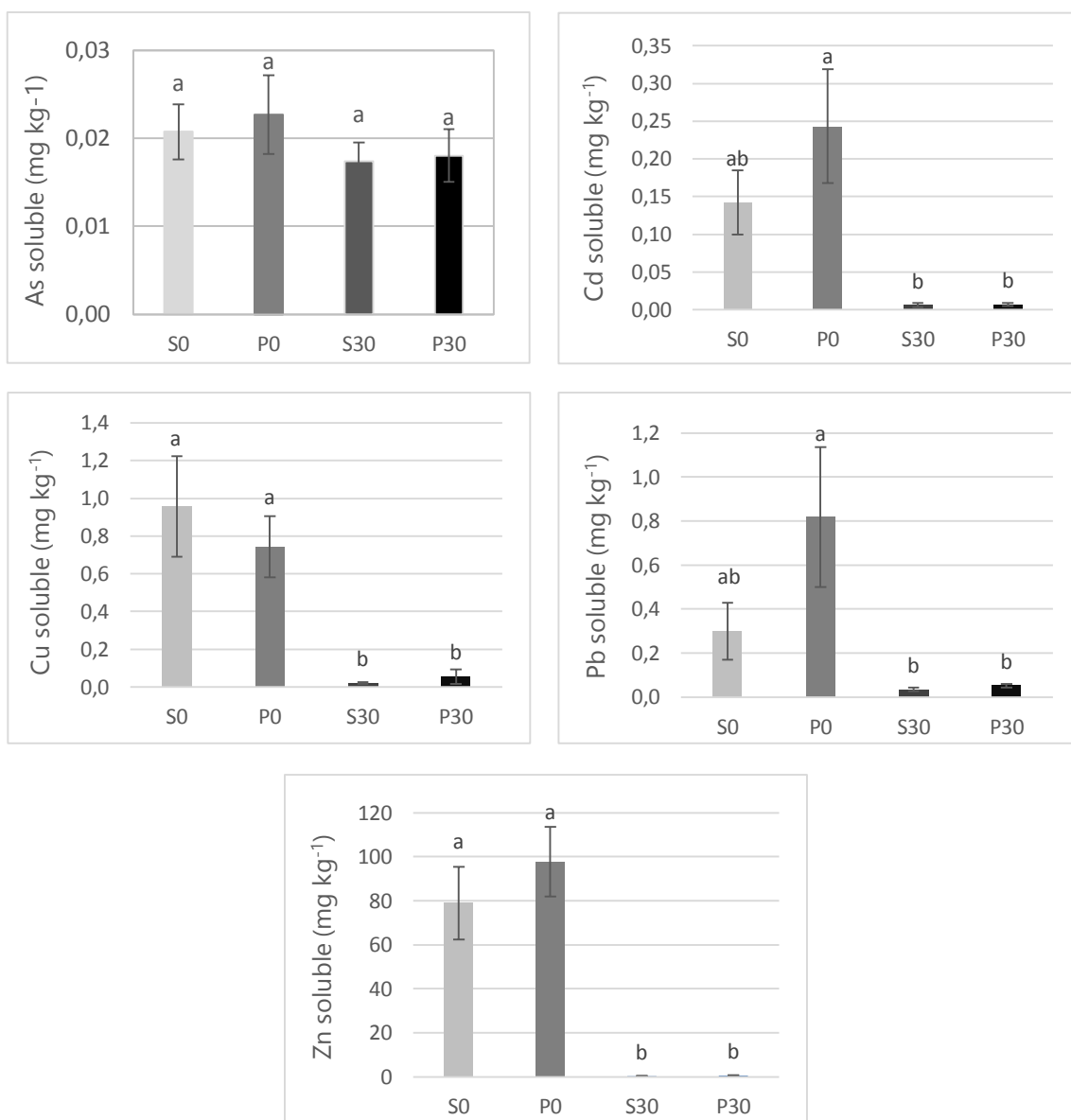
### **4.2.9 Concentración de metales pesados y As en el suelo.**

En el presente estudio se determinaron las concentraciones totales de As, Cd, Cu, Pb y Zn. Estos cuatro metales y el metaloide As son de los elementos potencialmente más peligrosos para el medioambiente y para la salud humana, por lo que su cuantificación es de gran relevancia en estudios de remediación de suelos contaminados por metales pesados. La

concentración de metales/metaloides totales no varió entre muestreos, como era de esperar, debido a que la técnica de fitoestabilización asistida no pretende reducir su contenido, sino inmovilizar los metales de forma que queden menos disponibles para los seres vivos, se facilite el establecimiento de vegetación y el transporte por erosión y lixiviación se minimicen (Kabas et al., 2012; Parra et al., 2014).

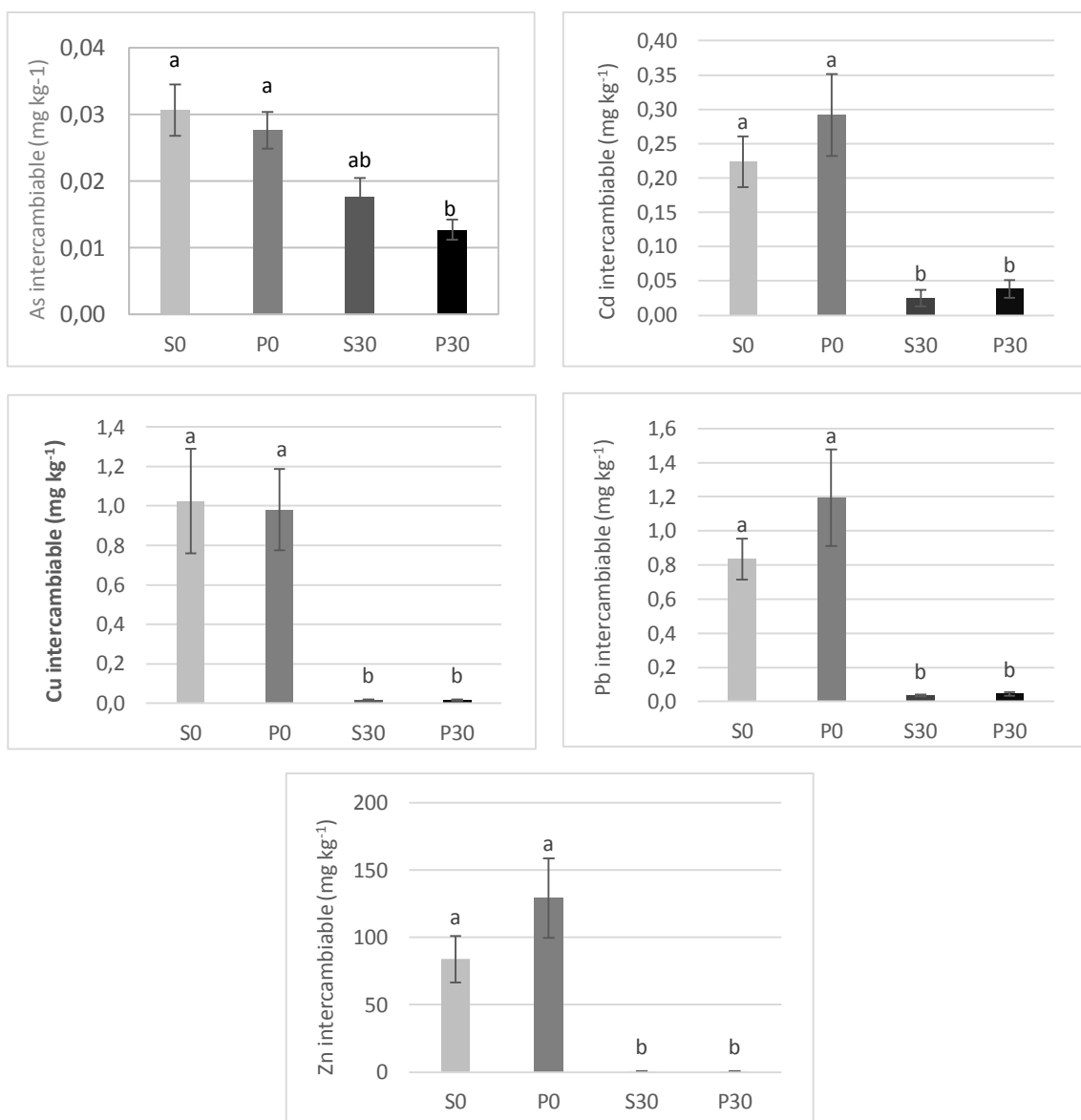
La concentración total de metales pesados/metaloides en un suelo proporciona una idea de su grado de acumulación (Alvarenga et al., 2009a), sin embargo, la movilidad de los mismos y su absorción por las plantas y microorganismos del suelo está condicionada por su especiación química (Bes et al., 2014; Conesa et al., 2008). Por esta razón, el contenido total es de escaso valor a la hora de predecir el impacto ecológico que pueden generar (Alvarenga et al., 2009a). La determinación de la forma química en la que se encuentran los metales es esencial para una evaluación objetiva de los riesgos asociados a su presencia en el suelo (Bes et al., 2014).

Los contenidos de metales pesados/metaloides solubles e intercambiables están representados en las figuras 14 y 15, respectivamente.



**Figura 14. Concentración media de metales/metaloideos solubles (H<sub>2</sub>O) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para P>0,05. SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.





**Figura 15. Concentración media de metales/metaloides intercambiables ( $\text{CaCl}_2$ ) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . S0: superficie inicial; P0: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

Los metales/metaloides solubles son aquellos que se encuentran en la solución del suelo, y que pueden adsorberse en la superficie de las partículas con carga (arcillas, óxidos hidratados de Fe y Al, compuestos húmicos) o precipitar con aniones fosfato, carbonato, sulfatos o hidróxidos (Martínez y Pérez, 2007). La medida de esta fracción indica la cantidad del elemento que

puede ser solubilizada con el agua de lluvia y por tanto lixiviada o transportada por escorrentía superficial en disolución, pudiendo contaminar aguas superficiales y subterráneas. Esta fracción constituye la más móvil y potencialmente biotóxica del suelo.

La fracción soluble de As no ha presentado diferencias significativas entre las muestras iniciales y finales, ni entre muestras de superficie y profundidad, situándose las medias alrededor de  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ . En cuanto a la fracción soluble de los metales, todos han reducido su concentración tras la aplicación de enmiendas. En superficie, el Cd soluble ha disminuido desde  $0,14 \text{ mg kg}^{-1}$  en S0 hasta  $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$  en S30, mientras que en profundidad se ha reducido significativamente desde  $0,24 \text{ mg kg}^{-1}$  en P0, hasta  $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$  en P30. La concentración de Cu soluble descendió significativamente entre los muestreos inicial y final, tanto en superficie (desde  $0,96 \text{ mg kg}^{-1}$  para S0, hasta  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$  para S30) como en profundidad (desde  $0,74 \text{ mg kg}^{-1}$  para P0 hasta  $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$  para P30). En el caso del Pb, en las muestras superficiales tuvo lugar un descenso desde  $0,30 \text{ mg kg}^{-1}$  (S0) hasta  $0,03 \text{ mg kg}^{-1}$  tras la aplicación de enmiendas (S30). En profundidad, las concentraciones se redujeron significativamente desde  $0,82 \text{ mg kg}^{-1}$  en P0, hasta  $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$  en P30. La concentración de Zn soluble se redujo significativamente entre los muestreos inicial y final, tanto para las muestras superficiales (desde  $78,93 \text{ mg kg}^{-1}$  en S0, hasta  $0,43 \text{ mg kg}^{-1}$  en S30) como para las de profundidad (desde  $97,83 \text{ mg kg}^{-1}$  en P0, hasta  $0,53 \text{ mg kg}^{-1}$  en P30). No se encontraron diferencias significativas entre las muestras superficiales y de profundidad para un mismo muestreo en ninguno de los metales.

La fracción intercambiable de los metales/metaloides está constituida por las formas químicas que se encuentran tanto en la solución del suelo como retenidas débilmente por los componentes del mismo (Paradelo et al., 2011) y es una de las más tóxicas para las plantas y microorganismos edáficos (Clemente y Bernal, 2006). Como puede observarse en la figura 15, la concentración de todos los metales y el As intercambiables se redujo tras la aplicación de enmiendas. En superficie, la media de As intercambiable disminuyó desde  $0,030 \text{ mg kg}^{-1}$  (S0) hasta  $0,018 \text{ mg kg}^{-1}$  (S30), sin mostrar

diferencias significativas, mientras que en profundidad tuvo lugar una reducción significativa desde  $0,028 \text{ mg kg}^{-1}$  (P0), hasta  $0,013 \text{ mg kg}^{-1}$  (P30). En relación al Cd, su fracción intercambiable se redujo en superficie desde  $0,22 \text{ mg kg}^{-1}$  en S0, hasta  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$  en S30, mientras que en profundidad lo hizo desde  $0,29 \text{ mg kg}^{-1}$  en P0, hasta  $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$  en P30, con diferencias significativas en ambos casos. El Cu intercambiable disminuyó significativamente tanto en superficie (desde  $1,02 \text{ mg kg}^{-1}$  para S0, hasta  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$  para S30) como en profundidad (desde  $0,98 \text{ mg kg}^{-1}$  para P0, hasta  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$  para P30). El Pb intercambiable se redujo significativamente, tanto en superficie como en profundidad: desde  $0,84 \text{ mg kg}^{-1}$  en S0, hasta  $0,03 \text{ mg kg}^{-1}$  en S30; y desde  $1,19 \text{ mg kg}^{-1}$  en P0, hasta  $0,04 \text{ mg kg}^{-1}$  en P30. En superficie, el Zn intercambiable disminuyó significativamente desde  $83,97 \text{ mg kg}^{-1}$  (S0), hasta  $0,34 \text{ mg kg}^{-1}$  (S30). En profundidad, se produjo un descenso significativo desde  $129,30 \text{ mg kg}^{-1}$  (P0), hasta  $0,59 \text{ mg kg}^{-1}$  (P30). No se observaron diferencias significativas entre muestras superficiales y de profundidad para el mismo muestreo en ninguno de los metales ni en el As.

Al comparar las fracciones soluble e intercambiable del As, podemos observar que siguen una tendencia diferente. Fernández-Caliani y Barba-Brioso (2010) documentaron una tendencia similar a la seguida en el presente estudio por el As soluble, tras la adición de lodo de mármol en un depósito del Distrito Minero de Tharsis (Andalucía). Las formas químicas de As que predominan en los suelos son aniones de As (III) y de As (V) ( $\text{AsO}_2^-$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$  y  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ) y resultan ser las más móviles (Conesa et al., 2008; Kabata-Pendias, 2011). El As presenta una correlación positiva con el pH (Bes et al., 2014). Moreno-Jiménez et al. (2011) encontraron mayores concentraciones de As intercambiable en un depósito minero cuando el pH era inferior a 3 o bien superior a 6. En el primer caso, la mayor disponibilidad de As se debe a la formación de ácido arsénico como consecuencia de la mayor cantidad de  $\text{H}^+$  en el medio. Esta forma química apenas es retenida en los suelos debido a que su carga neta es nula. En el segundo caso, cuando el pH aumenta por encima de 6 (en nuestro caso hasta 6,5 y 6,8 en superficie y profundidad, respectivamente), los grupos  $\text{OH}^-$  de la solución del suelo compiten con los

aniones de As por los lugares de adsorción, aumentando así la solubilidad de éstos últimos (Fernandez-Caliani y Barba-Brioso, 2010; Moreno-Jiménez et al., 2011).

El As (V) tiene un comportamiento similar a los fosfatos y oxianiones de fósforo en el suelo, debido a que disponen de propiedades físicas y químicas comunes (misma disposición tetraédrica y carga). Por ello, ambos pueden competir por los lugares de adsorción, principalmente en los óxidos de Fe y Al, y los fosfatos pueden sustituir al As mediante intercambio aniónico, aumentando así la solubilidad del As (Brady, 1984; Pardo et al., 2011). La adición de purín y estiércol de cerdo, ricos en P, puede ser otro de los factores que ha influenciado la solubilidad del As en Santa Antonieta.

Las formas catiónicas de As ( $As^{+3}$  y  $As^{+5}$ ) son menos abundantes (Kabata-Pendias, 2011). El  $As^{+5}$  puede ser reducido a  $As^{+3}$  por las bacterias edáficas. Esta forma química es retenida con menos fuerza por los compuestos inorgánicos del suelo, resultando la reducción microbiana en un aumento de la movilidad del As (Park et al., 2011).

Al igual que ha sucedido en el presente estudio, Parra et al. (2014) documentaron un descenso en la fracción intercambiable de As tras la adición de lodo de mármol y purín de cerdo en un depósito del Distrito Minero de Cartagena-La Unión. De acuerdo con Kabata-Pendias (2011), los iones de As pueden ser fijados fácilmente por hidróxidos de Fe y Al, minerales de la arcilla, compuestos de P y Ca y por la MO. Según esta autora, en algunos casos la aplicación de fosfatos puede disminuir la disponibilidad de As. Sin embargo, numerosas investigaciones han mostrado un incremento de la movilidad de este metaloide tras la adición de fosfatos (e.g. Cao et al., 2003; Cui et al., 2009). El As tiene una afinidad muy alta por los óxidos e hidróxidos de Fe, por lo que estos compuestos juegan un papel fundamental en la inmovilización de las formas libres de As (Bes et al., 2014; González et al., 2011). En suelos con pH elevado, predominan los compuestos As-Ca (Kabata-Pendias, 2011). La adición de materiales como el  $CaCO_3$  puede promover la formación de arseniatos de Ca, que al precipitar reducen la movilidad de este metaloide.

Teniendo en cuenta lo comentado hasta ahora, podemos suponer que las dos fracciones de As descritas están gobernadas por factores distintos en el suelo estudiado: el pH parece haber sido el condicionante en el caso de la fracción soluble, mientras que el CaCO<sub>3</sub>, los óxidos de Fe y la MO lo han sido para la fracción intercambiable.

El Cd y el Zn son de los metales que presentan mayor movilidad en el suelo (Conesa et al., 2008; Zornoza et al., 2012a), y ambos muestran un comportamiento similar (Kabas et al., 2014b). De acuerdo con Moreno-Jiménez et al. (2011), el orden de extractabilidad para los metales estudiados suele ser el siguiente:

Cd~Zn> Cu>> As

En el presente estudio, el Zn fue el metal que mostró mayores concentraciones en la fracción intercambiable.

El Zn tiene una gran capacidad para interactuar con las sales del suelo, dando lugar a lo que se conoce como “neoformación de sulfatos”, que aumentan su acumulación en las capas superficiales del suelo (García et al., 2008). De este modo, durante las lluvias torrenciales que se producen en primavera y otoño en el sureste español, estos metales pueden ser rápidamente lixiviados o transportados por la escorrentía superficial, contaminando aguas subterráneas y superficiales (Conesa et al., 2008). En general, los factores que determinan el comportamiento de los metales en los suelos son: su concentración total, el pH del suelo, la presencia de óxidos, carbonatos y MO (compuestos solubles, sustancias húmicas y fosfatos), el contenido de arcilla y la conductividad eléctrica. Según Kabata-Pendias (2011), los minerales de la arcilla, los oxihidróxidos y el pH son los factores más importantes en el control de la solubilidad del Zn en los suelos. La movilidad del Cd y el Zn está altamente influenciada por el pH y presenta una correlación negativa con él (e.g. Conesa et al., 2008; Pardo et al., 2011; Zornoza et al., 2012b). Cuando el pH es inferior a 6, aumenta la solubilidad de estos metales, (Martínez-Pagán et al., 2011), pero en el rango de pH 6-7, el suelo tiene gran capacidad de adsorción de Cd (Vaca-Paulín et al., 2006) y a pH superior a 6,5

la fracción soluble de Zn puede precipitar con los carbonatos presentes en el suelo (Kabas et al., 2014a).

La reducción de la movilidad de estos dos metales con la aplicación de purín de cerdo y lodo de mármol ha sido demostrada previamente por diversos autores. Kabas et al. (2014b) y Zornoza et al. (2012b) documentaron una disminución de su fracción soluble; Parra et al. (2014) observaron una reducción significativa de Cd intercambiable, señalando la efectividad de estas enmiendas debido a la complejación de los metales con la MO adicionada con el purín, a la precipitación de los mismos en forma de carbonatos y fosfatos y al aumento del pH inducido por el lodo de mármol. Zornoza et al. (2013a) identificaron esta combinación de enmiendas como la más efectiva y rápida para reducir la disponibilidad de algunos metales como el Zn. Estos autores obtuvieron unos descensos del Zn intercambiable de hasta un 97%, atribuyéndolos principalmente a la inmovilización por carbonatos. Fernández-Caliani y Barba-Brioso (2010) documentaron una concentración tres veces menor de Zn soluble tras la adición de lodo de mármol en un suelo minero. El contenido de  $\text{CaCO}_3$  de los suelos afecta a la movilidad de los metales de dos maneras: directamente, mediante interacciones superficiales, e indirectamente, mediante la reducción de la acidez y su influencia en los componentes del suelo (De Santiago, 2013). Un incremento de pH aumenta la carga negativa de las arcillas, la MO y los óxidos e hidróxidos de Fe, aumentando su capacidad de retención de metales.

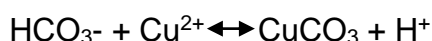
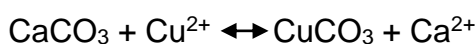
Por otro lado, el Cd puede precipitar en presencia de  $\text{PO}_4^{3-}$ , dando lugar a fosfatos de Cd insolubles (Vaca-Paulín et al., 2006). Zornoza et al. (2013a) obtuvieron reducciones de hasta un 98% en la fracción intercambiable de Cd, señalando la efectividad de los fosfatos en la precipitación del Cd, y por tanto, en la reducción de su movilidad. El alto contenido en P que presentan tanto el purín como el estiércol de cerdo puede haber contribuido a la reducción de las fracciones soluble e intercambiable de Cd. Pérez de Mora et al. (2006b) observaron una reducción del Cd intercambiable en parcelas enmendadas con diferentes materiales orgánicos (compost de residuos urbanos, cal de remolacha azucarera y un biosólido).

La MO también puede contribuir a reducir la movilidad del Zn. Alvarenga et al. (2009a) estudiaron el efecto del lodo de depuradora, compost de residuos urbanos y compost vegetal en la reducción de la movilidad de los metales. Todas las enmiendas disminuyeron la fracción intercambiable de Zn por debajo de los límites de detección del equipo. Estas enmiendas orgánicas, y en especial el compost, están constituidas por MO con cierto grado de madurez, por lo que el Zn puede formar complejos orgánicos estables con ella. Antoniadis y Alloway (2002) aplicaron irrigaciones con diferentes dosis de MO soluble en macetas que contenían una mezcla de suelo y lodo de depuradora. Los resultados mostraron que aquellas macetas a las que se les había aplicado una dosis mayor de MO soluble aumentaron significativamente la fracción intercambiable de Zn. Esta variabilidad muestra la influencia de la composición de la MO en la movilidad de los metales. La MO más humificada forma complejos órgano-metálicos estables, mientras que enmiendas ricas en MO soluble facilitan la movilidad de los metales por formación de quelatos solubles. La movilización de los metales pesados por quelación con ligandos orgánicos y su consecuente lixiviación a aguas subterráneas es de gran importancia. El transporte de los coloides a lo largo del perfil del suelo parece ser un mecanismo significativo de transporte de los metales en suelos enmendados con materiales orgánicos con alto contenido en CO soluble. Diversos autores han señalado que el Zn forma enlaces débiles con la MO, por lo que atribuyen la gran parte de su inmovilización a los carbonatos y óxidos de Fe (Fornes et al., 2009; Paradelo et al., 2011).

Kabas et al. (2012) documentaron que la presencia de vegetación en el depósito minero de El Gorguel tuvo mayor influencia en la reducción del Cd soluble que el efecto directo de la aplicación de lodo de mármol y purín de cerdo. Parra et al. (2014) observaron una interacción significativa entre la presencia de *R. officinalis* y *L. dentata* y la fracción intercambiable de Cd. Conesa et al. (2006) obtuvieron una concentración significativamente menor de Zn soluble en la rizosfera de *L. spartum* y *H. decumbens* en comparación con la concentración de esta fracción en el suelo yermo, atribuible a la formación de compuestos Zn-MO estables. Por el contrario, Kabas et al. (2014a) observaron

incrementos en la fracción soluble de Cd y Zn en la rizosfera de *Z. fabago*, atribuibles a la formación de quelatos solubles con la MO.

En general, el Cu presenta menor movilidad que el Cd y el Zn, y el Pb es el metal menos móvil en el suelo (Conesa et al., 2006; Martínez-Pagán et al., 2011; Moreno-Jiménez et al., 2011; Zornoza et al., 2012a). Al igual que el Cd y el Zn, la movilidad de estos dos metales está directamente relacionada con el pH, presentando una correlación negativa con él (Alvarenga et al., 2008, 2009a; Bes et al., 2014; Conesa et al., 2008). De acuerdo con Lagomarsino et al. (2011), los principales contribuyentes en la retención del Cu en los suelos son los óxidos de Fe y Mn. Sin embargo, esta adsorción depende del pH, puesto que es esta variable la que determina la carga de los grupos funcionales y sitios de cambio de los componentes del suelo. Un aumento del pH ocasionado por la incorporación de CaCO<sub>3</sub>, favorece la adsorción y co-precipitación de los iones metálicos de Cu, libres en la solución del suelo, con oxihidróxidos de Fe (Fernández-Caliani y Barba-Brioso, 2010). Lagomarsino et al. (2011) aplicaron caliza dolomítica y compost en un suelo afectado por el lavado de madera tratada con compuestos de Cu, y documentaron una reducción significativa de su fracción intercambiable por el efecto de las enmiendas. La especiación química del Cu en suelos calcáreos está determinada por el contenido en CaCO<sub>3</sub>, ya que este metal puede precipitar en forma de CuCO<sub>3</sub>, CuO, Cu<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ó Cu(OH)<sub>2</sub> (Lagomarsino et al., 2011; Rodríguez-Rubio et al., 2003). Fernández-Caliani y Barba-Brioso (2010), obtuvieron concentraciones de Cu soluble tres veces menores a la concentración inicial, tras la aplicación de lodo de mármol. La precipitación del Cu en la superficie de los carbonatos tiene lugar según la ecuación 9 (Ponizovsky et al., 2007):



Ecuación 9. Precipitación de Cu en las superficie de carbonatos (Ponizovsky et al., 2007).



En cuanto al Pb, los resultados obtenidos en este estudio se asemejan a los de algunos autores que emplearon las mismas enmiendas (Parra et al., 2014; Zornoza et al., 2013a). Zornoza et al. (2013b) obtuvieron reducciones de hasta un 98% del Pb intercambiable tras la adición de purín de cerdo y lodo de mármol. Un incremento del pH induce la precipitación del Pb en forma de hidróxidos, fosfatos o carbonatos, y promueve la formación de complejos orgánicos que pueden ser bastante estables (Kabata-Pendias, 2011). De acuerdo con Park et al. (2011), la adsorción de Pb aumenta fuertemente con el pH y alcanza el máximo a pH 8. Pardo et al. (2011) obtuvieron una disminución del Pb intercambiable con el aumento del pH, tras la adición de compost de alperujo y purín de cerdo. Zornoza et al. (2013a) concluyeron que la precipitación del Pb mediante carbonatos es necesaria para inmovilizar este metal en el suelo. La MO, incorporada a través del purín y el estiércol de cerdo, juega un papel muy importante en el caso de estos dos metales. Según Rodríguez-Rubio et al. (2003), éste es el factor que más influye en la especiación química del Cu en el suelo, aunque su papel depende del pH.

En general, el orden de afinidad de los metales por la materia orgánica es el siguiente:



El Cu es el metal pesado que presenta mayor afinidad por la MO, incluyendo sustancias húmicas, plantas, residuos celulares microbianos y MO particulada. De acuerdo con Lagomarsino et al. (2011), el Cu en el suelo está asociado principalmente con ácidos orgánicos de elevado peso molecular, formando complejos orgánicos no solubles. En su investigación, la cantidad de Cu asociado a la MO se triplicó tras la adición de compost. La MO con cierto grado de madurez está formada principalmente por ácidos húmicos, con altos contenidos en grupos funcionales como carboxil, fenol, hidroxil, enol y carbonil. Cuando aumenta el pH del suelo, los protones  $\text{H}^+$  se disocian de estos grupos funcionales aumentando la afinidad por los metales pesados. Los grupos carboxilo de los ácidos húmicos juegan un papel muy importante en la inmovilización del Cu (II) (Clemente y Bernal, 2006). Kabas et al., (2014b)

atribuyeron el descenso en la concentración de Pb soluble en el depósito minero de El Lirio a la precipitación con el lodo de mármol aplicado, y también a la formación de complejos estables con la MO incorporada mediante el purín de cerdo. El Pb tiene una gran afinidad por la MO, propiedad que aumenta con el aumento de pH (Kabata-Pendias, 2011). La reducción del Pb soluble por precipitación en forma de fosfatos es de gran importancia en los suelos, ya que la estabilidad de los fosfatos metálicos presenta el siguiente orden:  $Pb > Cu > Zn$  (Kabata-Pendias, 2011). Según Conesa et al. (2010), la EPA recomienda la aplicación de cal y fosfatos como herramientas eficaces en la inmovilización del Pb. Alvarenga et al. (2009a) redujeron la fracción intercambiable de Cu y Pb hasta valores inferiores al límite de detección tras la aplicación de lodo de depuradora, compost urbano y compost vegetal. Por el contrario, Vaca-Paulín et al. (2006) estudiaron el efecto del lodo de depuradora y del compost en la distribución y adsorción del Cu y Cd en el suelo y observaron que las muestras enmendadas con lodo de depuradora tenían menor capacidad de adsorción del Cu, debido al mayor contenido en CO soluble de este residuo. La asociación de los metales con MO rica en compuestos solubles puede aumentar su movilidad, debido a la formación de quelatos. Este hecho se acentúa en el caso del Cu (Zhao et al., 2007).

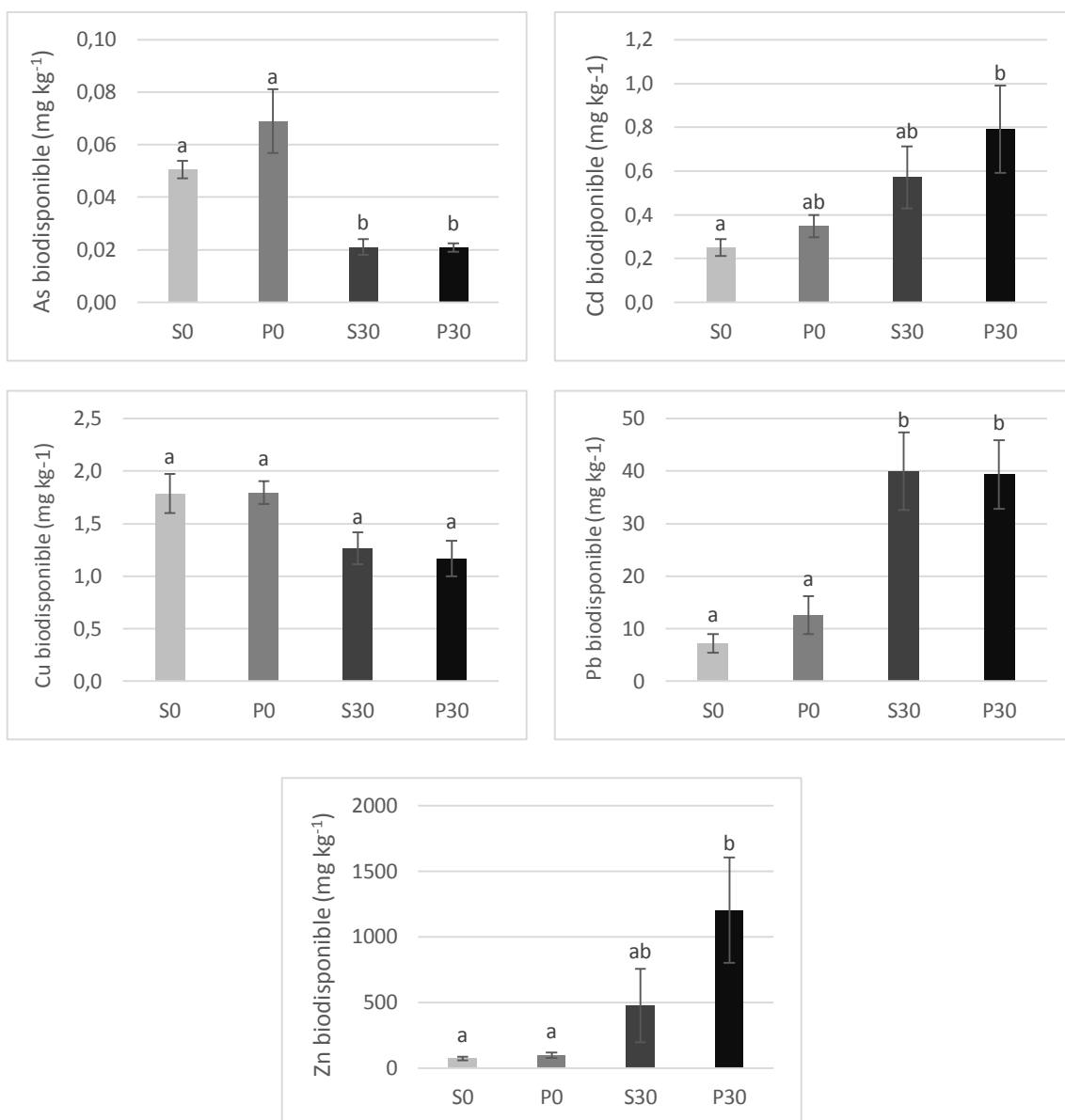
Al igual que para el Cd, Kabas et al. (2012) documentaron que la presencia de vegetación en el depósito minero de El Gorguel (en la Sierra Minera de Cartagena-La Unión) tuvo mayor influencia en la reducción de la fracción soluble de Cu y Pb que el efecto directo de la aplicación de lodo de mármol y purín de cerdo, atribuible a la formación de complejos insolubles con la MO. Parra et al. (2014) encontraron menores concentraciones de Cu y Pb intercambiables en el tratamiento control plantado con *R. officinalis* y *L. dentata* sobre estériles mineros de un depósito de la Sierra Minera de Cartagena-La Unión. Kabas et al. (2014a) documentaron una disminución de la fracción soluble de Pb en la rizosfera de *Z. fabago*, mientras que la movilidad del Cu aumentó en las mismas condiciones. Los resultados de Conesa et al. (2006) mostraron una concentración dos veces mayor de Pb soluble en la rizosfera de *L. spartum* y *H. decumbens* en comparación con el suelo yermo. Las plantas

pueden modificar la disponibilidad de los metales mediante sus exudados radiculares. Éstos incluyen aminoácidos, ácidos carboxílicos, azúcares y fenoles, que, según la especie vegetal y el metal del que se trate, pueden formar complejos estables con las formas catiónicas de los metales que se encuentran en la solución del suelo, o formar quelatos solubles, aumentando su movilidad.

En conclusión, podemos suponer que la reducción de las fracciones soluble e intercambiable de los metales ha tenido lugar principalmente mediante precipitación con el  $\text{CaCO}_3$  procedente del lodo de mármol, mediante precipitación con fosfatos (en el caso del Cd y el Pb) y por la formación de complejos estables con la MO procedentes del purín y el estiércol de cerdo. En relación al As, los carbonatos han aumentado su solubilidad por el incremento de pH, sin embargo, han sido efectivos en la disminución de su fracción intercambiable.

De este modo, podemos afirmar que el lodo de mármol, el purín y el estiércol de cerdo son efectivos a la hora de reducir la disponibilidad de los metales. Este hecho se traduce en una disminución del riesgo de contaminación de aguas superficiales por escorrentía y de aguas subterráneas por lixiviación, además de favorecer el crecimiento vegetal y microbiano por reducción de la toxicidad de los metales y mitigar los riesgos de entrada de los metales en la cadena trófica.

En relación a la fracción biodisponible, los resultados obtenidos se muestran en la figura 16. Esta fracción de los metales representa aquella que puede ser potencialmente absorbida por las plantas. La biodisponibilidad de los metales en el suelo está condicionada por múltiples factores: la distribución heterogénea de los componentes del suelo, la variabilidad espacial y temporal de los parámetros del suelo, la especiación química del metal, la transferencia entre fases y la bioacumulación (Kabata-Pendias, 1995).



**Figura 16. Concentración media de metales/metaloides biodisponibles (DTPA) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

Como puede observarse en la figura 16, esta fracción ha seguido una tendencia distinta entre los diferentes metales/metaloides. El As biodisponible disminuyó significativamente treinta meses después de la aplicación de enmiendas. En superficie, lo hizo desde  $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$  (S0) hasta  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$

(S30), mientras que en profundidad lo hizo desde 0,07 mg kg<sup>-1</sup> (P0), hasta 0,02 mg kg<sup>-1</sup>(P30). El Cd biodisponible se incrementó tras la aplicación de enmiendas, aunque la variación no fue significativa. En las muestras superficiales, el aumento tuvo lugar desde 0,25 mg kg<sup>-1</sup> (S0), hasta 0,57 mg kg<sup>-1</sup> (S30), mientras que en profundidad lo hizo desde 0,31 mg kg<sup>-1</sup> (P0), hasta 0,79 mg kg<sup>-1</sup> (P30). El Cu biodisponible no mostró diferencias significativas entre los valores iniciales y finales ni entre las muestras superficiales y de profundidad. Las concentraciones iniciales fueron: 1,79 y 1,80 mg kg<sup>-1</sup> en superficie (S0) y profundidad (P0), respectivamente; mientras que los valores finales fueron 1,27 y 1,07 mg kg<sup>-1</sup> para S30 y P30, respectivamente. El Pb biodisponible aumentó significativamente tanto en las muestras superficiales (desde 7,22 mg kg<sup>-1</sup> en S0, hasta 39,99 mg kg<sup>-1</sup> en S30) como en las de profundidad (desde 12,62 mg kg<sup>-1</sup> en P0, hasta 39,38 mg kg<sup>-1</sup> en P30). En superficie, la fracción de Zn biodisponible aumentó desde 71,32 mg kg<sup>-1</sup> en S0, hasta 475,44 mg kg<sup>-1</sup> en S30; en profundidad, tuvo lugar un incremento significativo desde 98,08 mg kg<sup>-1</sup> en P0, hasta 1203,63 mg kg<sup>-1</sup> en P30. No se han encontrado diferencias significativas entre las muestras superficiales y de profundidad de un mismo muestreo, para ninguno de los metales ni el As.

Paradelo et al. (2011) estudiaron la reducción de la disponibilidad a corto plazo de Cu, Pb y Zn en un suelo agrícola enmendado. En este tipo de suelos, el extractante DTPA separa la mayor parte de las fracciones de los metales, incluyendo la soluble, intercambiable, la adsorbida y ligada a la MO y algunos metales ligados a óxidos y a minerales de la arcilla. Basándonos en esta premisa y en los resultados obtenidos para las fracciones soluble e intercambiable del Cd, Pb y Zn (todos disminuyeron), el aumento de la fracción biodisponible de estos metales puede deberse, principalmente, a la formación de complejos con la MO procedente de las enmiendas orgánicas y de la vegetación y, en segundo lugar, a la adsorción de los metales por óxidos e hidróxidos de Fe y minerales de la arcilla. Zornoza et al. (2012b) no observaron ninguna variación significativa en la fracción biodisponible de Cd, Pb y Zn al incorporar purín de cerdo o lodo de depuradora con lodo de mármol. Kabas et al. (2014b) obtuvieron un descenso de esta fracción debido al incremento de

pH inducido por el  $\text{CaCO}_3$  y por el aumento de la CIC en la rizosfera de *Z. fabago*. Parra et al. (2014) también obtuvieron reducciones significativas de Cd, Pb y Zn biodisponible en la rizosfera de *L. dentata* y *R. officinalis*. La vegetación desarrollada en el depósito estudiado puede haber favorecido la disponibilidad potencial de estos tres metales. Las plantas pueden modificar las condiciones en la rizosfera mediante los exudados radiculares, aumentando o disminuyendo la disponibilidad de los metales según la especie vegetal. Según Jin et al. (2005), la biodisponibilidad del Pb está influenciada principalmente por el contenido de MO del suelo.

Los resultados de Fernández-Caliani y Barba-Brioso (2010) mostraron una reducción significativa de la fracción biodisponible de estos metales (extraída con EDTA), y principalmente del Pb, con la incorporación de lodo de mármol. Kabas et al. (2014b) redujeron la fracción biodisponible del Pb al aplicar lodo de mármol de forma individual, o conjuntamente con purín de cerdo. La adición de lodo de mármol en el depósito de la mina Santa Antonieta ha podido favorecer la precipitación de estos metales y al añadir el ácido orgánico DTPA, se han podido solubilizar parte de los carbonatos metálicos formados, liberando los metales.

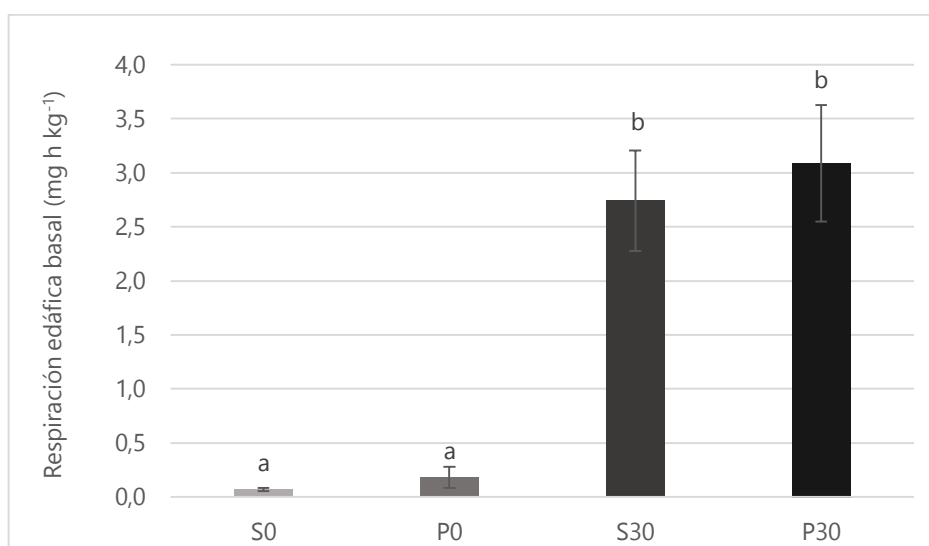
En el caso del Cu, la fracción biodisponible se ha mantenido prácticamente sin cambios, a pesar de que las fracciones soluble e intercambiable han disminuido. Zornoza et al. (2012b) obtuvieron resultados similares tras adicionar lodo de depuradora y purín de cerdo conjuntamente con lodo de mármol. Por el contrario, Parra et al. (2014) observaron un descenso significativo del Cu biodisponible con la aplicación de lodo de mármol y purín de cerdo. Estos autores documentaron un descenso en la fracción biodisponible de As tras incorporar dichas enmiendas, observando además una influencia significativa de la actividad radicular de las especies vegetales *L. dentata* y *R. officinalis*. Por lo tanto, la reducción de la biodisponibilidad observada en Santa Antonieta puede deberse a la precipitación del As con los carbonatos adicionados con el lodo de mármol y a la formación de complejos estables con la MO orgánica procedente de las enmiendas orgánicas y de la vegetación.

A pesar de lo comentado acerca de esta fracción, hemos basado los resultados obtenidos en la capacidad de extracción del DTPA en suelos agrícolas. Sin embargo, los componentes del suelo implicados en la retención/movilización de metales difieren mucho en los suelos formados a partir de estériles mineros (contenido en MO, óxidos e hidróxidos de Fe y Mn, fosfatos, sulfuros, sulfatos etc). Por ello, sería conveniente realizar estudios encaminados a determinar qué fracciones concretas se extraen con el DTPA en suelos mineros, para asegurar que los resultados de estudios como el que aquí acontece, se interpreten correctamente, y de este modo poder conocer realmente el comportamiento de los metales en el suelo y si efectivamente existen riesgos potenciales de entrada en la cadena trófica.

### 4.3 PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DEL SUELO.

#### 4.3.1 Respiración edáfica basal.

La respiración edáfica basal (RB) representa el potencial que tienen los microorganismos del suelo para degradar la materia orgánica bajo unas determinadas condiciones ambientales, y nos da una idea del carbono potencialmente mineralizable que contiene el suelo (Medina, 2012).



**Figura 17. Respiración edáfica basal (RB) en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las

barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

Los valores de RB se incrementaron significativamente con los tratamientos llevados a cabo (desde 0,1 hasta 2,7 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> en superficie y desde 0,2 hasta 3,1 mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, en profundidad) (figura 17). No se encontraron diferencias significativas entre las muestras superficiales y de profundidad para un mismo muestreo.

El aumento significativo en la RB indica una activación de la actividad microbiana en el suelo, que se produjo gracias a la incorporación de materia orgánica. La incorporación de C orgánico mediante las enmiendas orgánicas permitió la activación y el cambio de la comunidad microbiana presente en el suelo. Además, el purín y el estiércol de cerdo contienen microorganismos, que contribuyen a aumentar dicha población (Pardo et al., 2014; Zornoza et al., 2013a).

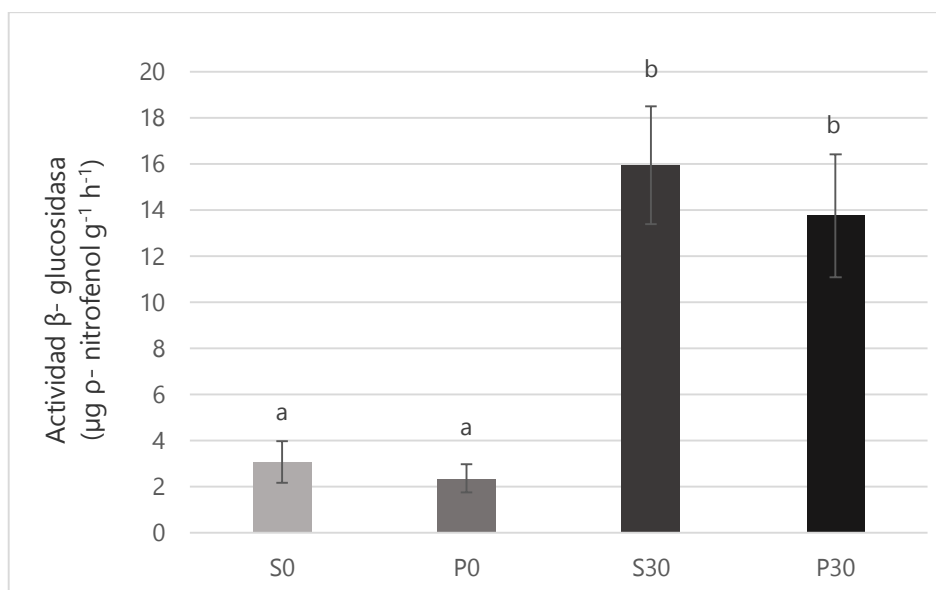
Además de servir como fuente de nutrientes y energía, la materia orgánica puede formar compuestos estables con los metales pesados, reduciendo su movilidad (Kabata-Pendias 2011), lo que también favorece el desarrollo de la microbiota edáfica. Las formas móviles de los metales pesados (principalmente Cd, Cu, Pb, y Zn) afectan de forma adversa al crecimiento y actividad de los microorganismos, inhibiendo los procesos de degradación de la MO (Wong, 2003).

Las plantas también juegan un papel importante en la creación de un medio favorable para los microorganismos, principalmente mediante su actividad radicular, tal como demostraron Pardo et al. (2014). El desarrollo de microorganismos en suelos contaminados por metales pesados es un logro de gran importancia, ya que llevan a cabo procesos de descomposición y transformación de los distintos componentes del suelo, que modifican su pH y potencial redox (influyendo así en la movilidad de los metales) (Martínez y Pérez, 2007) y, creando de este modo un ecosistema edáfico cada vez más autosuficiente y sostenible.



### 4.3.2 Actividad $\beta$ - glucosidasa.

La enzima  $\beta$ -glucosidasa, cataliza la hidrólisis extracelular de  $\beta$ -D-glucósidos, dando como producto glucosa y suministrando de este modo energía para los microorganismos edáficos (Tabatabai, 1982; Alvarenga et al., 2008).



**Figura 18. Actividad  $\beta$ - glucosidasa en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

Tal como muestra la figura 18, la actividad de esta enzima se incrementó significativamente en Santa Antonieta, desde 3,1 hasta 15,9  $\mu\text{g p- nitrofenol kg}^{-1} \text{h}^{-1}$  en superficie y desde 2,3 hasta 13,8  $\mu\text{g p- nitrofenol kg}^{-1} \text{h}^{-1}$  en profundidad. No hubo diferencias significativas entre muestras superficiales y en profundidad para cada muestreo. Varios autores han documentado resultados similares en suelos contaminados con metales pesados y tratados con biosólidos o con diferentes tipos de compost como fuentes de MO (Alvarenga et al., 2008; Lagomarsino et al., 2011).

Uno de los factores que ha contribuido al aumento de la actividad  $\beta$ -glucosidasa es el incremento del CO en el suelo, como consecuencia de la

aplicación de purín y estiércol de cerdo y del desarrollo de la vegetación, que incorpora compuestos orgánicos mediante residuos vegetales y exudados radiculares. Como se ha comentado anteriormente, la MO supone una fuente de nutrientes para los microorganismos edáficos y, en el caso del purín de cerdo, el 50% del carbono que contiene es lábil, por lo que su disponibilidad para la degradación microbiana es muy elevada (Zornoza et al., 2013a). La actividad  $\beta$ -glucosidasa ha aumentado también debido a la reducción de la disponibilidad de elementos traza. La actividad enzimática es muy sensible a la contaminación por metales pesados. En efecto, Alvarenga et al. (2009b) encontraron una correlación negativa entre la actividad enzimática del suelo y la movilidad de Cu, Zn y Pb. La adición de las enmiendas ha permitido la inmovilización de gran parte de los elementos traza contenidos en el suelo.

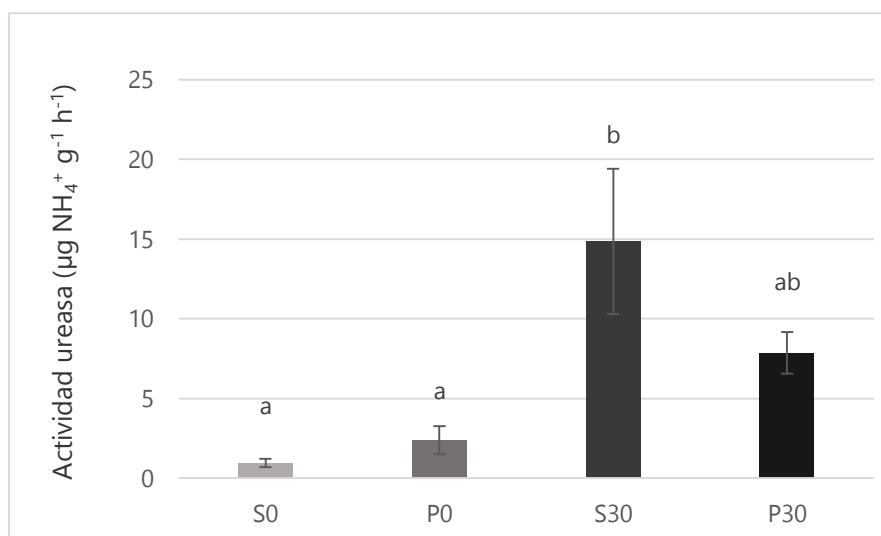
Zornoza et al. (2012b) también resaltaron la influencia de la vegetación en la actividad enzimática de los suelos, ya que, además de aportar MO, las plantas producen y liberan enzimas al medio a través de su sistema radicular, reactivando así los ciclos bioquímicos de muchos nutrientes como el C, N y S. En efecto, estos autores encontraron correlaciones positivas entre la actividad enzimática del suelo y la cobertura y riqueza vegetal.

### 4.3.3 Actividad ureasa.

La enzima ureasa cataliza la hidrólisis de la urea a dióxido de carbono y amoníaco, según la siguiente reacción (Borie y Fuentealba, 1982):



Ecuación 10. Reacción de hidrólisis de la urea a  $\text{CO}_2$ , catalizada por la enzima ureasa (Borie y Fuentealba, 1982).



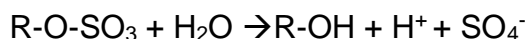
**Figura 19. Actividad ureasa en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . SO: superficie inicial; PO: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

La actividad ureasa se incrementó con el tratamiento empleado, aunque únicamente se encontraron diferencias significativas en el muestro superficial de enero de 2014 con respecto al muestreo inicial (figura 19). Las medias aumentaron desde 1,0 hasta 14,9  $\mu\text{g NH}_4^+ \text{g}^{-1} \text{h}^{-1}$  en superficie. Este incremento es, principalmente, consecuencia de la adición de las enmiendas orgánicas, con altas concentraciones de N orgánico.

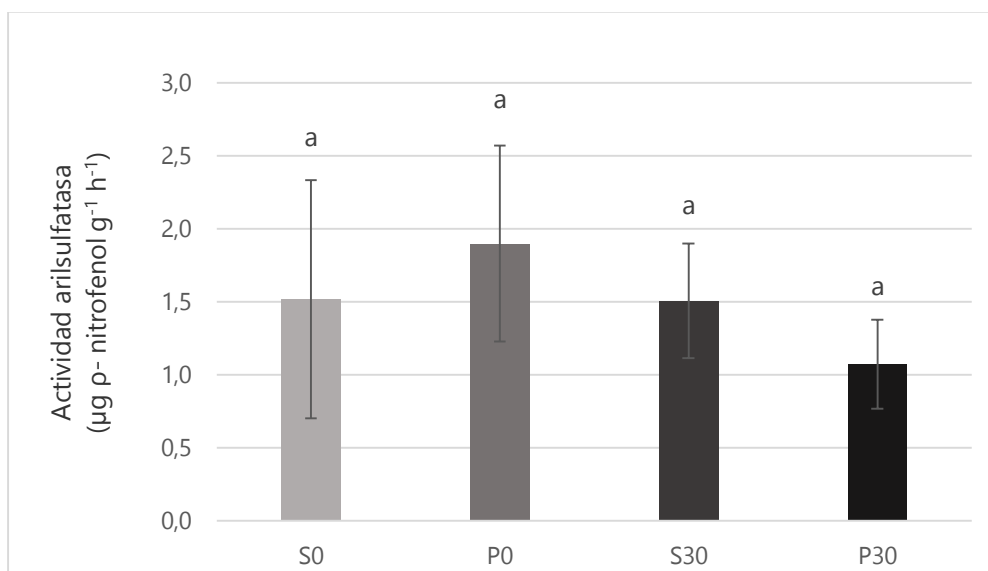
El aumento en la actividad ureasa de un suelo se debe a un incremento en la cantidad de N orgánico (Alvarenga et al., 2008). Zornoza et al. (2012b) obtuvieron incrementos del 500% en la actividad de esta enzima tras la aplicación de purín de cerdo. Alvarenga et al. (2009b) también lograron potenciar la actividad ureasa tras aplicar lodo de depuradora, y obtuvieron una correlación positiva perfecta entre este parámetro y el contenido de N en el suelo. Estos autores también documentaron una correlación positiva entre la actividad ureasa (y  $\beta$ -glucosidasa) y la biomasa microbiana, el pH y la CE, demostrando que la restauración de las condiciones ambientales favorables para el desarrollo de los microorganismos permite la activación de los ciclos biogeoquímicos del suelo.

#### 4.3.4 Actividad arilsulfatasa.

La mayor parte del azufre que contienen los suelos naturales se encuentra en forma orgánica. Tras su mineralización, se transforma en sulfato, forma asimilable por las plantas. La arilsulfatasa cataliza la reacción de hidrólisis de los éster sulfatos orgánicos a sulfato, según la siguiente reacción (Medina, 2012):



Ecuación 11. Reacción de hidrólisis de éster sulfatos orgánicos a sulfato, catalizada por la enzima arilsulfatasa (Medina, 2012).



**Figura 20. Actividad arilsulfatasa en muestras de suelo recogidas antes y treinta meses después de la aplicación de enmiendas.** Las barras de error representan el error típico: letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. Las barras con la misma letra son estadísticamente iguales. Las barras con letra distinta son estadísticamente diferentes para  $P > 0,05$ . S0: superficie inicial; P0: profundidad inicial; S30: superficie treinta meses después de aplicar enmiendas; P30: profundidad treinta meses después de aplicar enmiendas.

No se encontraron diferencias significativas entre ninguno de los valores de esta actividad enzimática, ni en función de la profundidad ni en función del tiempo (figura 20).

Los resultados obtenidos no se corresponden con los de otras investigaciones sobre rehabilitación de suelos mineros mediante

fitoestabilización asistida (Pardo et al., 2014; Pérez de Mora et al., 2006a). Zornoza et al. (2012b) llegaron a obtener aumentos del 4000% tras adicionar purín de cerdo al suelo.

La tendencia seguida en Santa Antonieta puede deberse a dos motivos:

- a) Las actividades enzimáticas son muy sensibles a la presencia de metales pesados. En un suelo contaminado, éstos compiten con las enzimas por la unión con los cofactores enzimáticos, o con los sustratos o sitios catalíticos específicos, por lo que la actividad enzimática queda inhibida (Acosta-Martínez et al., 2001). La actividad arilsulfatasa puede haberse visto inhibida por la alta concentración de metales pesados en el depósito. Pérez de Mora et al. (2006a) encontraron una correlación negativa entre la actividad arilsulfatasa y la concentración de metales pesados solubles en el suelo, y documentaron una mayor sensibilidad de esta enzima a la presencia de metales pesados que la  $\beta$ -glucosidasa.
- b) La concentración suficiente de sulfatos en el suelo, debido a la oxidación de los sulfuros (pirita, blenda y galena) ha hecho innecesaria la liberación de esta enzima por los microorganismos.

## 4.4 EVOLUCIÓN DE LA VEGETACIÓN.

### 4.4.1 Cobertura vegetal.

La cobertura vegetal reduce la erosión eólica e hídrica (ya que retiene el suelo con su sistema radicular, contribuye a mejorar la estructura edáfica, frena el impacto de las gotas de lluvia en la superficie y devuelve una gran parte del agua de percolación a la atmósfera a través de la transpiración (Tordoff et al., 2000 citado en Kabas et al., 2012)). Además, estabiliza la superficie del suelo, mejora su estructura, aumenta su fertilidad, favorece la actividad microbiana y reduce el impacto visual causado por la minería (Peña et al., 2015; Yang et al., 2010; Wong, 2003).

En el depósito minero de la mina Santa Antonieta este parámetro alcanzó un valor del 62% después de 30 meses tras la primera aplicación de enmiendas. La adición de las enmiendas orgánicas favoreció inicialmente el desarrollo de la vegetación. El efecto del purín de cerdo sobre el crecimiento vegetal ha sido documentado previamente por diversos autores (Kabas et al., 2012; Zornoza et al., 2012b). En estos estudios previos se documentó que la presencia de purín en los suelos posibilitó la colonización espontánea de los depósitos mineros por especies pioneras. Yang et al. (2010) obtuvieron incrementos del 100% de cobertura un año y medio después de la revegetación de un depósito minero en China, tras haber sido enmendado con cal y estiércol de ave. La MO es fuente de nutrientes y reduce la toxicidad de los metales, favoreciendo el incremento de la cobertura vegetal del suelo (Pardo et al., 2011).

Complementariamente, el establecimiento inicial de las especies adecuadas provoca cambios en las condiciones del suelo, debidos a la actividad radicular y a los aportes de materia orgánica, y posibilita la introducción natural de nuevas especies, que contribuyen a aumentar la cobertura vegetal.

#### **4.4.2 Riqueza vegetal.**

En el muestreo realizado en enero de 2014 en el depósito se encontraron 17 especies vegetales distintas. Algunas de ellas coinciden con especies introducidas inicialmente y otras aparecieron con posterioridad (tabla 4). La mejora de las propiedades edáficas y la reducción de la biodisponibilidad de los metales posibilitó la introducción natural de siete nuevas especies: *Salsola kali*, *Malva sylvestris*, *Chenopodium murale*, *Chenopodium álbum*, *Diplotaxis lagascana*, *Moricandia arvensis* y *Oxalis pes-caprae*. Tres de las especies que se plantaron en marzo de 2012 han desaparecido del depósito: *R. officinalis*, *D. viscosa* y *C. dactylon*.

Tabla 4. Riqueza vegetal treinta meses después de la aplicación de enmiendas.

ESPECIE	SIEMBRA/PLANTACIÓN	COLONIZACIÓN ESPONTÁNEA
<i>A. halimus</i>	*	
<i>C. album</i>		*
<i>C. murale</i>		*
<i>C. albidus</i>	*	
<i>D. lagascana</i>		*
<i>H. stoechas</i>	*	
<i>H. hirta</i>	*	
<i>L. dentata</i>	*	
<i>L. spartum</i>	*	
<i>L. caesium</i>	*	
<i>M. sylvestris</i>		*
<i>M. arvensis</i>		*
<i>O. pes-caprae</i>		*
<i>P. saxatile</i>	*	
<i>P. miliaceum</i>	*	
<i>S. kali</i>		*
<i>S. tenerrimus</i>	*	

La mayoría de las especies presentadas en la tabla 4 se han descrito previamente como colonizadoras de suelos contaminados por metales pesados, principalmente en zonas de clima árido o semiárido (tabla 5).

*A. halimus* y *S. kali* son dos especies halófitas de porte arbustivo. Las especies halófitas son tolerantes a altas concentraciones de sales y a la sequía y, generalmente, a la presencia de iones metálicos, gracias a diferentes mecanismos: i) síntesis de osmoprotectores, que mantienen el potencial osmótico entre el interior y el exterior de la célula (prolina, glicina, betaína) (Clemente et al., 2012; Lefèvre et al., 2009; Van Oosten y Maggio, 2015); ii) secuestro de metales en vacuolas. Este proceso se lleva a cabo mediante fitoquelatinas, péptidos que se sintetizan ante la presencia de metales pesados y que forman complejos con As, Cd o Zn principalmente, acumulándose en las

vacuolas en forma de cristales (Castillo, 2005; Van Oosten y Maggio, 2015); iii) Incorporación de metales en cristales de oxalato (Cd, Pb y Zn) (Lutts et al., 2004; Van Oosten y Maggio, 2015). *A. halimus* está ampliamente distribuida en las regiones áridas y semiáridas de la cuenca Mediterránea (Walker et al., 2014). Esta especie ha colonizado espontáneamente varias zonas mineras de la Sierra Minera de Cartagena-La Unión (tabla 5), y se considera adecuada para recuperación de suelos contaminados por metales pesados mediante fitoestabilización asistida, ya que ha demostrado generar una cobertura vegetal estable, aumentar el contenido de MO y nutrientes y favorecer la actividad microbiana del suelo (Clemente et al., 2012). Pérez-Esteban et al. (2013) destacaron la capacidad de esta especie de producir grandes cantidades de biomasa. Las especies pertenecientes al género *Atriplex* tienen además un sistema radicular profundo, lo que permite reducir la erosión del suelo (Clemente et al., 2012). Pardo et al. (2014) señalaron que la combinación de *A. halimus* con purín de cerdo o con compost es una estrategia de fitoestabilización muy efectiva.

Determinadas especies pertenecientes al género *Cistus* también se han empleado previamente en proyectos de fitoestabilización (tabla 5) por su adaptación a diferentes tipos de suelos y su tolerancia a altas concentraciones de metales pesados.

*H. hirta*, *L. spartum* y *P. miliaceum* son tres especies herbáceas de la familia de las gramíneas (*Poaceae*). Las gramíneas se consideran muy adecuadas en proyectos de fitoestabilización en climas áridos y semiáridos, ya que toleran condiciones de extrema acidez, salinidad y altas temperaturas, además de presentar una baja transferencia de metales hacia las partes aéreas de la planta (Conesa et al., 2009; Párraga-Aguado et al., 2013). Tanto *P. miliaceum* como *L. spartum* tienen un sistema radicular fuerte, que protege el suelo de la erosión. Las plantas jóvenes de *L. spartum* son consumidas por el ganado (Conesa et al., 2009).

*D. lagascana* y *M. arvensis* son dos especies herbáceas de la familia de las crucíferas o brasicáceas. La primera puede ser bianual o perenne (Alcaraz



et al., 2014) y habita en lugares yermos, con suelos yesíferos, margosos o calcáreos. *M. arvensis* es una especie oportunista, que crece en suelos ricos en nutrientes. Se trata de una hierba anual o perenne, característica de climas desérticos y mediterráneos.

*C. album* y *C. murale* son especies herbáceas anuales de la familia de las quenopodiáceas (Alcaraz et al., 2014; Bassett y Crompton, 1978). *C. murale* es nativa de la región del Mediterráneo occidental. Se desarrolla en escombreras y otros lugares influidos por la actividad humana (Alcaraz et al., 2014). Del Río-Celestino et al. (2006) señalaron la idoneidad de *C. album* para estrategias de fitoestabilización en suelos contaminados con Pb, debido a que presenta mecanismos de exclusión que inmovilizan el metal en las células radiculares, sin transferencia a las partes aéreas de la planta.

Otra de las especies que han colonizado espontáneamente Santa Antonieta ha sido *M. sylvestris*. Se trata de una especie anual o perenne, de porte herbáceo (Alcaraz et al., 2014). La especies anuales suelen tener mecanismos de resistencia al estrés relacionado con un bajo contenido en agua y nutrientes (Conesa et al., 2007b), y juegan un papel muy importante en las primeras etapas de recuperación de los ecosistemas, debido a la mejora en las propiedades del suelo, posibilitando la colonización posterior de plantas bianuales y perennes (Dazy et al., 2008).

*Oxalis pes-caprae* es una especie herbácea típica de zonas costeras, que habita en ecosistemas influidos por la actividad humana. En España se encuentra en el litoral Mediterráneo, en la costa Cantábrica y en las Islas Canarias y Baleares. Se considera una especie invasora de arenales costeros, ya que tiene una tendencia demográfica muy expansiva. Constituye una fuente importante de nutrientes para el suelo, por lo que favorece la introducción de especies nitrófilas-ruderales (MARM, 2011), como *P. miliaceum* o *M. arvensis*. Madejón et al. (2006) documentaron la presencia de *O. pes-caprae* en un suelo afectado por el accidente de la mina de Aznalcóllar (Andalucía) enmendado un año antes con lodo de depuradora y cal de remolacha azucarera.

El aumento de la riqueza vegetal observado en Santa Antonieta se debe a la mejora de las condiciones edáficas (reducción de la acidez, disminución de la CE, incremento del contenido de MO y nutrientes y reducción de la biodisponibilidad de metales), lo que se consiguió gracias a la adición de las enmiendas y al desarrollo de la vegetación plantada o sembrada inicialmente. Kabas et al., (2012) obtuvieron la mayor riqueza vegetal en las parcelas enmendadas con purín de cerdo en comparación con los tratamientos control y con aquellas en las que sólo se adicionó lodo de mármol. Las especies empleadas en el depósito minero de Santa Antonieta son rápidas colonizadoras y características de las primeras etapas de desarrollo de los ecosistemas en climas áridos y semiáridos mediterráneos (Zornoza et al., 2012b). Su desarrollo permitió el establecimiento natural de otras especies, algunas de ellas exigentes en nutrientes. Este hecho demuestra que las acciones llevadas a cabo en el residuo minero, son efectivas para el establecimiento de una comunidad vegetal, que de momento parece ser autosostenible.

Tabla 5. Referencias adicionales de las especies encontradas en la balsa de residuos de la mina Santa Antonieta, y de otras especies tolerantes a metales pesados

<b>Especie</b>	<b>Familia</b>	<b>Referencia</b>
<i>Atriplex halimus</i>	Chenopodiaceae	Conesa et al. (2007b); Kabas et al. (2012); Párraga-Aguado et al. (2013); Zanuzzi et al. (2009).
<i>Chenopodium album</i>	Chenopodiaceae	De Haro et al. (2000); Del Río et al. (2002); Kabas et al. (2012)
<i>Chenopodium murale</i>	Chenopodiaceae	De Haro et al. (2000); Del Río et al. (2002); Kabas et al. (2012)
<i>Cistus albidus</i>	Cistaceae	De la Fuente et al. (2009)
<i>Cistus ladanifer L.</i>	Cistaceae	De la Fuente et al. (2009); Freitas et al. (2004)
<i>Cistus salviifolius L.</i>	Cistaceae	Abreu et al. (2012); De la Fuente et al. (2009); Freitas et al. (2004)
<i>Cynodon dactylon</i>	Poaceae	De Haro et al. (2000); De la Fuente et al. (2009); Del Río et al. (2002)
<i>Diplotaxis lagascana</i>	Brassicaceae	Kabas et al. (2012); Zanuzzi y Faz (2010)
<i>Ditrichia viscosa</i>	Asteraceae	Conesa et al. (2007b); Párraga-Aguado et al. (2013);

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

		Zanuzzi et al. (2009); Zornoza et al. (2012a)
<i>Helichrysum decumbens</i>	Asteraceae	Conesa et al. (2011a); Párraga-Aguado et al. (2013); Zanuzzi et al. (2009); Zornoza et al. (2012b)
<i>Helichrysum stoechas</i>	Asteraceae	Conesa et al. (2011b); De la Fuente et al. (2009); Freitas et al. (2004)
<i>Hypharrena hirta</i>	Poaceae	Conesa et al. (2006); Gómez-Ros et al. (2013); Zanuzzi et al. (2009)
<i>Lavandula dentata</i>	Lamiaceae	Kabas et al. (2014b); Parra et al. (2014); Párraga-Aguado et al. (2013)
<i>Limonium caesium</i>	Plumbaginaceae	Conesa et al. (2011b)
<i>Limonium sp.</i>	Plumbaginaceae	Conesa et al. (2007b)
<i>Lygeum spartum</i>	Poaceae	Conesa et al. (2006); Conesa et al. (2007c); Ottenhof et al. (2007); Zanuzzi et al. (2009)
<i>Malva sylvestris</i>	Malvaceae	Freitas et al. (2004); Madejón et al. (2006); Zanuzzi y Faz (2010)
<i>Moricandia arvensis</i>	Brassicaceae	
<i>Oxalis pes-caprae</i>	Oxalidaceae	De Haro et al. (2000); Madejón et al. (2006)
<i>Phagnalon saxatile</i>	Asteraceae	De la Fuente et al. (2009); Párraga-Aguado et al. (2013); Zanuzzi et al. (2009)
<i>Phragmites australis</i>	Poaceae	De la Fuente et al. (2009); Ottenhof et al. (2007); Párraga-Aguado et al. (2013); Zornoza et al. (2012b)
<i>Pinus halepensis</i>	Pinaceae	Conesa et al. (2007b); Gómez-Ros et al. (2013); Kabas et al. (2014b); Ottenhof et al. (2007); Párraga-Aguado et al. (2013)
<i>Piptatherum miliaceum</i>	Poaceae	Conesa et al. (2006); Kabas et al. (2012); Párraga-Aguado et al. (2013); Zornoza et al. (2012 a, b)
<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	Lamiaceae	De la Fuente et al. (2009); Párraga-Aguado et al. (2013)
<i>Salsola kali</i>	Chenopodiaceae	Kabas et al. (2012); Párraga-Aguado et al. (2013)
<i>Sonchus tenerrimus</i>	Asteraceae	Párraga-Aguado et al. (2013); Zanuzzi et al. (2009); Zornoza et al. (2012b)
<i>Stipa tenacissima L.</i>	Poaceae	Kabas et al. (2014b); Ottenhof et al. (2007); Párraga-

		Aguado et al. (2013)
<i>Tamarix canariensis</i>	Tamaricaceae	Kabas et al. (2014b); Ottenhof et al. (2007); Párraga-Aguado et al. (2013)
<i>Tamarix gallica L.</i>	Tamaricaceae	De la Fuente et al. (2009)
<i>Tetraclinis aciculata</i>	Cupressaceae	Gómez-Ros et al. (2013); Kabas et al. (2014b); Párraga-Aguado et al. (2013)
<i>Zygophyllum fabago</i>	Zygophyllaceae	Conesa et al. (2007a); Kabas et al. (2012); Párraga-Aguado et al. (2013); Zanuzzi et al. (2009); Zornoza et al. (2012 a, b)

#### **4.4.3 Índice de biodiversidad.**

El índice de biodiversidad de Shannon-Weaver refleja la heterogeneidad de las comunidades vegetales y la participación de cada una de las especies en el conjunto de la comunidad (Conesa et al., 2007b).

El índice de biodiversidad del depósito, transcurridos dos años desde su revegetación fue de 1,32, lo que refleja una proporción desigual de cada especie vegetal (tabla 6). Kabas et al. (2012) obtuvieron resultados similares (1,1-1,3) en un suelo minero enmendado con purín de cerdo y colonizado espontáneamente por *A. halimus*, *P. miliaceum*, *S. kali* y *Z. fabago*.

Tabla 6. N° de individuos ha<sup>-1</sup> de las especies encontradas en la balsa de residuos de la mina Santa Antonieta, treinta meses después de la aplicación de enmiendas.

<b>Especie</b>	<b>N° individuos ha<sup>-1</sup></b>
<i>A. halimus</i>	2437
<i>C. album</i>	472
<i>C. murale</i>	472
<i>C. albidus</i>	142
<i>D. lagascana</i>	47
<i>H. stoechas</i>	94
<i>H. hirta</i>	590
<i>L. dentata</i>	47
<i>L. spartum</i>	425
<i>L. caesium.</i>	71
<i>M. sylvestris</i>	566
<i>M. arvensis</i>	1
<i>O. pes-caprae</i>	2
<i>P. saxatile</i>	354
<i>P. miliaceum</i>	2862
<i>S. kali</i>	47
<i>S. tenerrimus</i>	307

*A. halimus* y *P. miliaceum* fueron las especies que dominaron fuertemente la comunidad vegetal de Santa Antonieta (entre 2000 y 3000 individuos).

*O. pes-caprae* y *M. arvensis* fueron las especies con menos individuos (2 y 1, respectivamente). Estos resultados son razonables, teniendo en cuenta que la colonización natural de los depósitos mineros por parte de plantas pioneras es lenta (Conesa et al., 2007b). A pesar de ello, los resultados son prometedores, puesto que el principal objetivo de la rehabilitación es el establecimiento de comunidades vegetales autosostenibles, que reflejen la diversidad y composición de las áreas circundantes. Además, el objetivo principal en la estrategia de fitoestabilización es crear una cubierta vegetal que sea capaz de tolerar las condiciones iniciales del suelo, e inmovilice los contaminantes, aportando MO y nutrientes y estimulando las poblaciones microbianas. Este objetivo se ha cumplido, y la cubierta vegetal es lo

suficientemente alta para reducir significativamente las tasas de erosión y la transferencia de los contaminantes a zonas adyacentes. Si la calidad del suelo se incrementa y se mantiene con el tiempo, es probable que especies de zonas forestales circundantes puedan colonizar el depósito minero y establecer una sucesión vegetal a comunidades más maduras, aunque este proceso es lento en este tipo de ambientes.

#### **4.4.4 Contenido en metales.**

La tabla 7 recoge las concentraciones de metales y As, en raíz y parte aérea de las especies que se plantaron/sembraron entre marzo y abril de 2012 en Santa Antonieta, y que han conseguido permanecer y desarrollarse en el depósito hasta el muestreo de enero de 2014. Las especies de porte arbustivo se separaron en raíz/tallo/hoja para el análisis de concentración de metales, mientras que en las de porte herbáceo se diferenció únicamente entre raíz/parte aérea.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Tabla 7. Media (error típico) ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de la concentración de metales y As en raíz y parte aérea en las especies sembradas/plantadas en Santa Antonieta entre marzo y abril de 2012, y recolectadas en enero de 2014.

Especie	Parte de la planta	As	Cd	Cu	Pb	Zn
<i>A. halimus</i>	Raíz	1,97 (0,28)a	0,42 (0,11)a	6,10 (1,56)a	26,90 (5,65)a	153,14 (45,49)a
	Tallo	1,68 (0,65)a	2,14 (1,01)a	8,64 (0,01)ab	8,73 (2,32)b	213,78 (92,72)a
	Hoja	2,22 (1,05)a	2,69 (1,56)a	15,09 (1,79)b	9,08 (0,92)b	594,51 (173,12)a
<i>C. albidus</i>	Raíz	1,45 (0,50)a	1,12 (0,20)a	3,42 (0,71)a	10,14 (3,01)a	82,84 (25,09)a
	Tallo	2,32 (0,45)a	1,86 (0,23)ab	3,24 (0,04)a	20,61 (4,95)a	133,10 (47,18)a
	Hoja	2,70 (0,62)a	2,09 (0,23)b	9,98 (1,61)b	12,73 (0,42)a	240,94 (11,48)a
<i>H. stoechas</i>	Raíz	1,83 (0,29)a	0,77 (0,27)a	3,82 (0,05)a	8,13 (2,08)a	47,28 (18,20)a
	Tallo	4,07 (0,28)b	1,52 (0,48)a	5,02 (1,19)a	34,57 (2,45)a	127,44 (2,47)a
	Hoja	13,64 (0,12)c	3,46 (0,29)b	12,23 (2,92)a	58,84 (34,43)a	484,45 (0,17)a
<i>H. hirta</i>	Raíz	2,50 (1,06)a	1,08 (0,13)a	4,02 (0,97)a	26,05 (13,44)a	101,88 (30,06)a
	Parte aérea	2,25 (0,80)a	0,47 (0,27)a	3,32 (0,61)a	8,34 (0,64)a	115,61 (26,65)a
<i>L. dentata</i>	Raíz	3,06 (1,09)a	0,95 (0,21)a	6,58 (0,55)a	22,26 (8,48)a	123,70 (25,19)a
	Tallo	5,07 (0,45)a	0,73 (0,11)a	7,33 (0,16)ab	39,39 (3,96)a	149,62 (18,47)ab
	Hoja	13,95 (0,96)b	0,77 (0,21)a	10,12 (0,97)b	95,22 (5,69)b	266,85 (39,89)b
<i>L. spartum</i>	Raíz	44,21 (3,31)a	2,40 (1,51)a	11,71 (2,54)a	328,02 (9,71)a	265,13 (144,13)a
	Parte aérea	2,32 (0,80)b	0,63 (0,09)a	3,03 (0,55)b	7,35 (0,22)b	17,55 (2,27)b
<i>L. caesium</i>	Raíz	4,33 (0,11)a	0,86 (0,27)a	12,77 (2,40)a	47,49 (19,64)a	167,68 (51,63)a
	Parte aérea	0,76 (0,05)b	0,62 (0,14)a	6,80 (0,06)b	6,07 (0,09)b	87,29 (13,49)b
<i>P. saxatile</i>	Raíz	2,81 (0,48)a	2,26 (1,08)a	7,65 (2,34)a	20,45 (10,51)a	144,99 (63,49)a
	Tallo	5,96 (0,12)b	2,94 (1,12)a	6,61 (1,68)a	40,20 (13,66)a	208,54 (43,29)a
	Hoja	5,94 (0,22)b	7,46 (3,78)a	13,17 (0,93)a	44,48 (5,26)a	525,45 (104,24)b
<i>P. miliaceum</i>	Raíz	19,70 (10,11)a	1,81 (0,86)a	13,50 (0,86)a	222,85 (5,50)a	403,60 (199,01)a
	Parte aérea	1,68 (0,58)a	0,24 (0,05)a	4,30 (0,78)b	6,37 (2,81)b	104,49 (33,19)a
Límites de toxicidad en la parte aérea de las plantas <sup>a</sup>		15	3	200	100-500	400
Límites de toxicidad para el ganado <sup>a</sup>		30	10	40	100	500

<sup>a</sup>Basado en los datos aportados por Mendez y Maier (2008).

En relación a *A. halimus*, no se obtuvieron diferencias significativas entre las distintas partes de la planta para el As, Cd y Zn, aunque acumuló más Cd y Zn en las hojas. De hecho, fue la especie que más Zn acumuló en esta parte de la planta. El Cu mostró una concentración significativamente mayor en las hojas, mientras que los niveles de Pb fueron significativamente mayores en las raíces.

*C. albidus* no mostró diferencias significativas en la acumulación de As, Pb y Zn, aunque los niveles de Zn fueron más altos en las hojas. Las concentraciones de Cd y Cu fueron significativamente mayores en las hojas.

En cuanto a *H. stoechas*, no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de Cu, Pb y Zn, aunque la tendencia fue a acumular estos tres metales en las hojas. El As y el Cd presentaron concentraciones significativamente mayores también en las hojas. Junto con *L. dentata*, fue la especie que más As acumuló en esta parte de la planta (presentando diferencias significativas en comparación con el resto de especies) y, junto con *L. dentata* y *P. saxatile*, acumuló concentraciones significativamente mayores de Pb en las hojas, en comparación con las demás especies.

*H. hirta* no mostró diferencias significativas para ninguno de los metales ni el As entre las distintas partes de la planta. Aun así, la concentración de Pb fue mayor en las raíces, mientras que el Zn tendió a acumularse en las hojas.

*L. dentata*, acumuló niveles significativamente mayores de As, Cu, Pb y Zn en las hojas. No se observaron diferencias significativas en el caso del Cd. Fue la especie que más As y Pb acumuló en las hojas.

*L. spartum* y *L. caesium* siguieron la misma tendencia: no se observaron diferencias significativas en la concentración de Cd entre las distintas partes de las plantas, pero sí se obtuvieron para el resto de metales y el As, siendo las concentraciones de todos ellos mayores en las raíces. *L. spartum* acumuló niveles significativamente mayores de As y Pb en las raíces en comparación con el resto de especies.



*P. saxatile* acumuló niveles significativamente mayores de As y Zn en las hojas, mientras que no mostró diferencias significativas para el Cd, Cu y Pb entre las distintas partes de la planta, aunque los valores de estos tres metales fueron mayores en las hojas.

Por último, no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de As, Cd, y Zn en las distintas partes de *P. miliaceum*, aunque éstas fueron mayores en las raíces. El Cu y el Pb mostraron niveles significativamente más altos en las raíces. Junto con *L. spartum*, *P. miliaceum* fue la especie que más Pb acumuló en las raíces, con valores significativamente mayores que el resto de especies.

Ninguna especie acumuló Cu hasta niveles considerados tóxicos (200 mg kg<sup>-1</sup>) (Mendez y Maier, 2008). *L. spartum* y *P. miliaceum* excedieron los límites de fitotoxicidad de As y Pb (15 mg kg<sup>-1</sup> y 100-500 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente) en las raíces; *H. stoechas* y *P. saxatile* sobrepasaron los límites de fitotoxicidad del Cd en las hojas (3 mg kg<sup>-1</sup>). En relación al Zn, *A. halimus*, *H. stoechas* y *P. saxatile* excedieron el límite de fitotoxicidad en las hojas, mientras que *P. miliaceum* lo hizo en las raíces (400 mg kg<sup>-1</sup>). *C. albidus*, *H. hirta*, *L. dentata*, *L. caesium* no excedieron los límites de toxicidad para ninguno de los metales ni para el As.

La toxicidad por iones metálicos da lugar a una serie de desórdenes en el funcionamiento normal de las plantas: i) Generación de radicales libres que provocan la peroxidación de lípidos, interfiriendo en las funciones proteicas y dañando las membranas; ii) Interacción directa de los metales con proteínas por afinidad con algunos grupos funcionales, compitiendo con su cofactor específico e interrumpiendo así la catálisis de enzimas, transducción de señales y estabilización de ADN y proteínas (Herrera et al., 2014; Van Oosten y Maggio, 2015).

De acuerdo con el criterio de Brooks (1998), ninguna especie es hiperacumuladora para ninguno de los metales ni para el As. Las concentraciones de metales en la parte aérea de las especies empleadas en estrategias de fitoestabilización no deben superar los límites máximos

establecidos para el ganado (30, 10, 40, 100 y 500 mg kg<sup>-1</sup> para el As, Cd, Cu, Pb y Zn, respectivamente) (Kabas et al., 2012; Méndez y Maier, 2008). Los niveles de Zn en las hojas de *A. halimus* y *P. saxatile* sobrepasaron dichos límites. Kabas et al. (2012) obtuvieron los mismos resultados en el caso de *A. halimus*. El elevado contenido de sal en las hojas de esta especie limita su ingestión por parte del ganado; sin embargo, suele ser colonizada por artrópodos fitófagos y sus predadores (Clemente et al., 2012). En el muestreo de enero de 2014 se encontraron dos ejemplares de *Pyrrhocoris apterus* y signos de entrada de otros animales como conejos y jabalíes. De acuerdo con Clemente et al. (2012), la tendencia de *A. halimus* a acumular metales pesados en las partes aéreas puede limitar su empleo para fitoestabilización en suelos moderadamente contaminados.

Al igual que ha ocurrido en Santa Antonieta, Kabas et al. (2012) documentaron una mayor concentración de Cu y Zn en la parte aérea de *A. halimus*, señalando esta especie como la mayor acumuladora de Cu y Zn en las hojas, entre todas las especies encontradas. Otros autores han documentado la tendencia de esta especie a translocar Zn hacia las partes aéreas (Pérez-Esteban et al., 2013; Rabier et al., 2014). *A. halimus* presenta una tolerancia a altas concentraciones de Zn tanto en sus tejidos como en el suelo, debido a la co-precipitación de este metal con oxalatos (Lutts et al., 2004). Rabier et al. (2014) documentaron mayores concentraciones de Pb en las raíces de *A. halimus* que en las hojas, al igual que se ha observado en Santa Antonieta. Según Clemente et al. (2012), *A. halimus* parece eficiente en excluir el Pb de las hojas por precipitación en la superficie radicular como Pb<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>CO<sub>2</sub>. En relación al Cd, Pérez-Esteban et al. (2013) observaron que esta especie presentaba una tendencia a translocarlo a las partes aéreas. Aunque en este caso no se han obtenido diferencias significativas, las concentraciones han sido algo mayores en la parte aérea. Rabier et al. (2014) observaron un contenido mayor de As en las raíces de esta especie. Por el contrario, Tapia et al. (2013) observaron un incremento del As en hoja 30 días después de la plantación de esta especie, sin embargo 60 días después los niveles eran mayores en las raíces. Estos autores sugirieron que *A. halimus*

presenta un mecanismo para translocar rápidamente As hacia las hojas hasta determinados niveles, a partir de los cuales la planta activa mecanismos de regulación. Igualmente, Clemente et al. (2012) documentaron un descenso con el tiempo de la concentración de As en hoja, desde niveles fitotóxicos hasta niveles no tóxicos. Vromman et al. (2011) sugirieron la secuestación intracelular de As por poliaminas en el caso de *Atriplex atacamensis*. De acuerdo con Manousaki y Kalogerakis (2011), las plantas halófitas emplean los mismos mecanismos de tolerancia a la salinidad para los metales pesados (mecanismos de compartimentalización, sistemas antioxidantes y osmoprotectores).

La tendencia que muestra *H. hirta* para el As y el Pb es similar a la documentada por Gómez-Ros et al. (2013), con concentraciones similares en raíz y parte aérea en el caso del As y mayores concentraciones de Pb en las raíces. Aunque en Santa Antonieta los niveles de Cu han sido similares en raíz y parte aérea, Poschenrieder et al. (2001) declararon esta especie como altamente resistente al Cu y muy eficiente en la inmovilización de este metal en las raíces, limitando su translocación a las partes aéreas de la planta.

Al igual que en el presente estudio, Parra et al. (2014) obtuvieron la mayor acumulación de As, Pb y Zn en las hojas de *L. dentata*. En cuanto al Cu, estos autores obtuvieron valores similares en todos los órganos de esta especie, mientras que en Santa Antonieta se observa una translocación de este metal hacia las hojas. Parra et al. (2014) observaron una correlación positiva entre la fracción biodisponible de Pb, Cd y Zn y su contenido en planta.

Tal como ha ocurrido en Santa Antonieta, diversos autores han obtenido mayores concentraciones de As, Cu, Pb y Zn en las raíces de *L. spartum*, en comparación con la parte aérea (Conesa et al., 2007c; Conesa et al., 2009; Conesa et al., 2011 a, b). En relación a los dos últimos metales, *L. spartum* demuestra tener mecanismos para evitar su translocación a las partes aéreas de la planta, incluso en suelos ácidos con elevadas concentraciones de metales solubles (Conesa et al., 2006). En relación al Cd, el comportamiento de esta especie no está del todo claro. De forma similar a lo obtenido en Santa

Antonieta, Conesa et al. (2011a) no encontraron diferencias significativas entre raíz y parte aérea; sin embargo, Conesa et al. (2011b) encontraron mayores concentraciones en la parte aérea, mientras que Conesa et al. (2009) observaron una acumulación mayor en el sistema radicular.

Como se ha comentado anteriormente, *L. caesium* acumuló más metales y As en el sistema radicular. Conesa et al. (2011a) observaron un comportamiento similar en el caso del Cd, Pb y Zn en un humedal salino afectado por la actividad minera, mientras que, en el caso del As y el Cu, estos autores obtuvieron unas concentraciones prácticamente iguales en raíz y parte aérea.

En relación a *P. miliaceum*, Kabas et al. (2012) obtuvieron una concentración 18 veces mayor de Pb en las raíces en comparación con la parte aérea, en parcelas enmendadas con lodo de mármol y purín de cerdo. Como se ha comentado anteriormente, esta especie fue la que más Pb acumuló en las raíces, incluso hasta niveles fitotóxicos, presentando diferencias significativas con la parte aérea. Varios autores han documentado la capacidad de *P. miliaceum* de generar mecanismos que eviten la translocación de metales y As a la parte aérea de la planta (Conesa et al., 2006, 2009, 2011b; Zornoza et al., 2012a).

No se han encontrado estudios de otras zonas mineras que documenten concentraciones en los diferentes órganos de *C. albidus* ni *P. saxatile*. En los análisis llevados a cabo por Martínez-Martínez et al. (2014) en julio de 2013 en Santa Antonieta, se observaron niveles más elevados de Pb y Zn en las hojas de *P. saxatile*, en comparación con la concentración radicular, igual que ha ocurrido en enero de 2014. En cuanto a *C. albidus*, la acumulación de Zn sigue la misma tendencia que en enero de 2013 (raíz<tallo<hoja) (Martínez-Martínez et al., 2014). En el caso del Pb, las concentraciones en tallo y hoja fueron similares y algo mayores que en raíz en los análisis de Martínez-Martínez et al. (2014), mientras que un año después parece que la mayor acumulación ha tenido lugar en el tallo. Las plantas pertenecientes al género *Cistus* son capaces de desarrollarse en suelos contaminados y pueden tolerar altas

concentraciones de As y Pb (Abreu et al., 2012). Diversos autores han investigado con otras especies del mismo género (*C. ladanifer* L., *C. salviifolius* L., *C. populifolius* L.) (Abreu et al., 2012; Freitas et al., 2004). Los primeros autores observaron una tendencia a acumular más As y Pb en las raíces de *C. salviifolius*, y más Zn en la parte aérea. Díez (2008) afirmó la efectividad de *C. ladanifer* en estrategias de fitoestabilización asistida, ya que esta especie presentó una baja acumulación de metales en las partes aéreas de la planta debido a un aumento de biomasa facilitado por las enmiendas aplicadas.

En resumen, los resultados obtenidos en este estudio parecen indicar que *A. halimus* tiende a translocar Cu y Zn hacia las partes aéreas, presentando niveles fitotóxicos y tóxicos para el ganado en el caso del Zn, lo que conlleva un riesgo de entrada de metales a la cadena trófica. Por ello, su empleo debería evitarse en suelos contaminados con estos metales. Sin embargo, ha demostrado ser eficaz en la estabilización del Pb en su sistema radicular. *H. stoechas* y *P. saxatile* translocaron todos los metales y el As hacia las partes aéreas, presentando fitotoxicidad para el Cd y el Zn y toxicidad para el ganado en el caso del Zn, por lo que, de acuerdo con nuestros resultados, no son adecuadas para estrategias de fitoestabilización.

*L. dentata* tiende a traslocar As, Cu, Pb y Zn hacia las hojas por lo que no debería emplearse en proyectos de fitoestabilización de suelos contaminados con estos metales y As. *H. hirta*, *L. spartum*, *L. caesium*, *P. miliaceum* han demostrado ser efectivas en estrategias de fitoestabilización, ya que disponen de mecanismos para evitar la translocación de metales y As hacia las partes aéreas de la planta, como el secuestro de los metales en las vacuolas de las células radiculares (Zornoza et al., 2012a). *C. albidus* translocó Cd, Cu y Zn hacia las hojas, aunque los niveles de metales y As no fueron muy elevados (excepto para el Zn). En relación a esta especie y a *P. saxatile*, dado que solamente se ha estudiado la dinámica de los metales en Santa Antonieta, sería interesante probar su eficacia en otros depósitos mineros, para corroborar su validez en este tipo de estrategias de remediación.

### 4.4.5 Factor de bioacumulación.

El factor de bioacumulación (FB) refleja la capacidad de acumulación de metales pesados por las plantas (Zornoza et al., 2012a). Cuando el FB es inferior a 1, la planta no acumula metales en sus tejidos; por el contrario, cuando el FB es superior a 1, la planta acumula y concentra metales.

Las figuras 21 a 25 muestran el FB de las especies sembradas/plantadas en Santa Antonieta entre marzo y abril de 2012 y que han conseguido permanecer y desarrollarse treinta meses después de la aplicación de enmiendas. Como podemos observar, el As mostró un  $FB > 1$  para todas las especies (figura 21). *H. stoechas* y *L. dentata* mostraron los mayores FB (703 y 677,6, respectivamente), mientras que el menor valor se observó en *L. caesium* (36,3). En el caso del Cd, *L. caesium*, *P. miliaceum* e *H. hirta* mostraron un  $FB < 1$  (figura 22). Para el resto de especies el FB fue  $> 1$ . Los valores más altos los mostraron *P. saxatile* (8,54) y *A. halimus* (5,07). En cuanto al Cu, el FB fue  $> 1$  para todas las especies (figura 23). *A. halimus* y *P. saxatile* mostraron los mayores FB (15 y 14,1, respectivamente), mientras que *L. spartum* e *H. hirta* mostraron los menores valores (2,9 y 2,3, respectivamente). *L. dentata* fue la única especie que mostró un  $FB > 1$  para el Pb (2,13) (figura 24). Por último, no se observó bioacumulación de Zn en ninguna de las especies (figura 25).

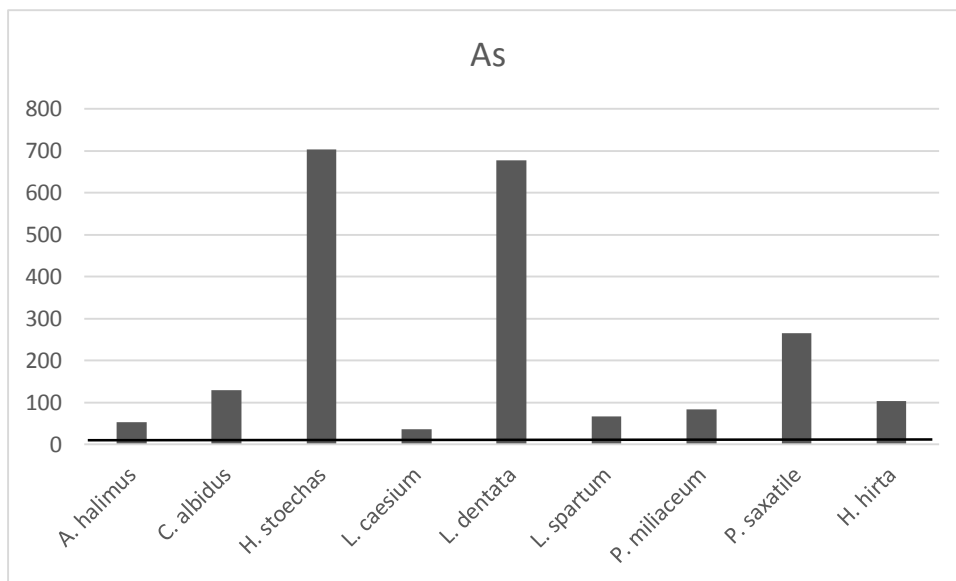


Figura 21. FB del As en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.

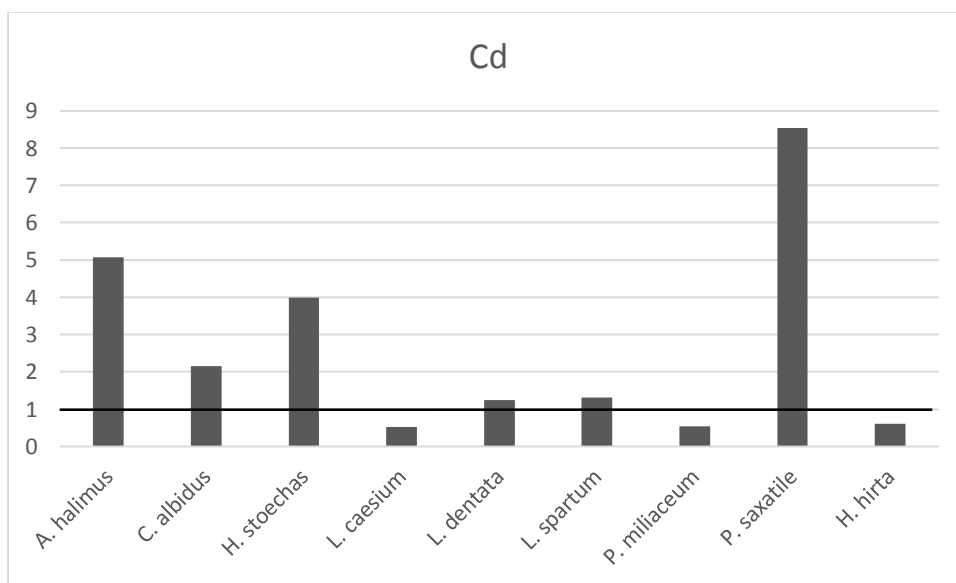


Figura 22. FB del Cd en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.

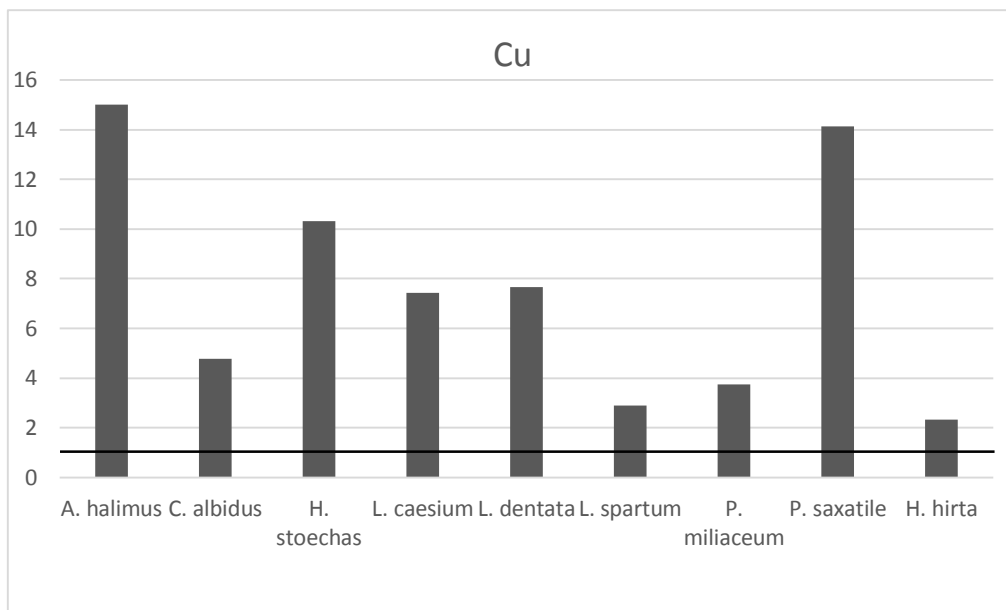


Figura 23. FB del Cu en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.

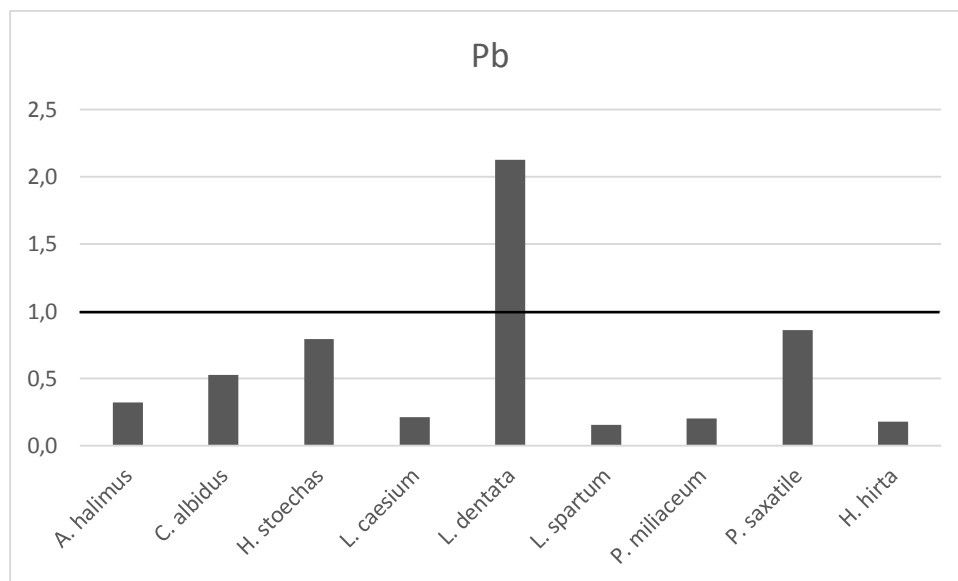


Figura 24. FB del Pb en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.



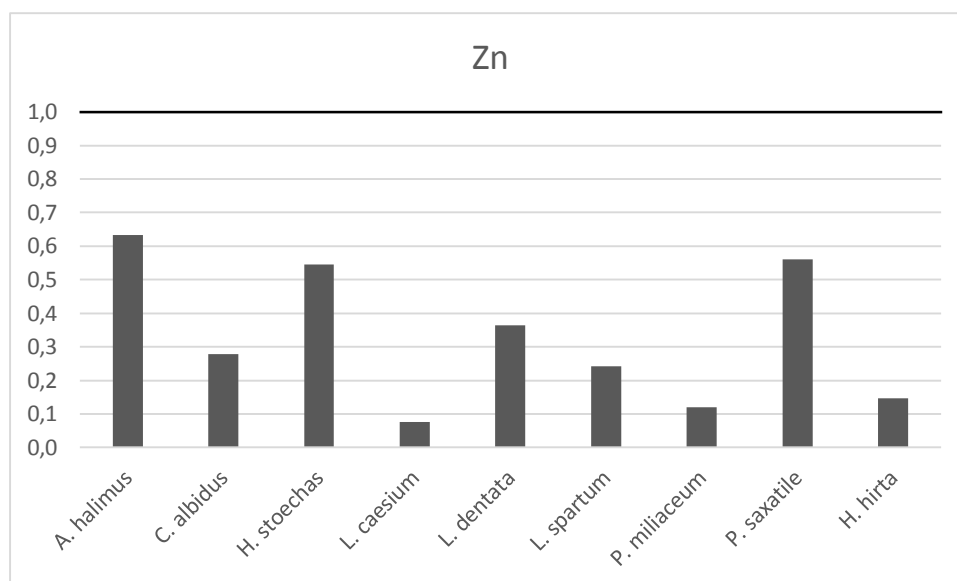


Figura 25. FB del Zn en la parte aérea de las especies vegetales desarrolladas en Santa Antonieta.

En relación al As, las referencias consultadas documentan un  $FB < 1$  para algunas de las especies empleadas en Santa Antonieta, contrariamente a lo observado en el presente estudio: Gomez-Ros et al. (2013) en el caso de *H. stoechas* e *H. hirta*; Tapia et al. (2013) en el caso de *A. halimus*; Conesa et al. (2007d) para *L. spartum*; Conesa et al. (2011a) para *L. caesium*. De acuerdo con Kabata-Pendias (2011), las plantas absorben pasivamente este metaloide. Como se ha comentado anteriormente, la fracción soluble de As aumentó debido al incremento de pH provocado por la adición de lodo de mármol, lo que ha podido facilitar su absorción por las plantas.

Respecto al Cd, otros autores han documentado la capacidad de *L. caesium*, *H. hirta* y *P. miliaceum* de no bioacumular de Zn en las partes aéreas (Conesa et al., 2007d; Conesa et al., 2011a; Gómez-Ros et al., 2013; Kabas et al., 2012; Zornoza et al., 2012a). Como hemos comentado anteriormente, estas especies presentan mecanismos para evitar la translocación de los metales hacia dichas partes de la planta. De forma contraria a lo observado en Santa Antonieta, los resultados de Kabas et al. (2012) no mostraron bioacumulación de Cd por parte de *A. halimus*. Lo mismo sucedió en el caso de *H. stoechas* en las investigaciones de Conesa et al. (2011a) y Gomez-Ros et al. (2013), y para

*L. spartum* en los estudios de Conesa et al. (2007d). La bioacumulación de Cd por algunas de las especies puede deberse a la formación de complejos órgano-metálicos con los exudados radiculares, que facilitan la absorción de los metales.

En relación al Cu, Kabas et al. (2012) también observaron bioacumulación por parte de *A. halimus* y *P. miliaceum*. Por el contrario, Conesa et al. (2007d) y Zornoza et al. (2012a) documentaron un  $FB < 1$  de este metal en *P. miliaceum*. Gómez-Ros et al. (2013) tampoco observaron bioacumulación de Cu en *H. stoechas* ni en *H. hirta* y lo mismo sucedió para *H. stoechas* y *L. caesium* en las investigaciones de Conesa et al. (2011a), y para *L. spartum* en las de Conesa et al. (2007d). El hecho de que todas las especies empleadas en Santa Antonieta hayan bioacumulado Cu puede deberse a la formación de quelatos solubles con los exudados radiculares, ya que este metal es el que mayor afinidad presenta por la MO, facilitándose de este modo su absorción (Kabas et al., 2012).

La única especie que mostró un  $FB > 1$  para el Pb fue *L. dentata*. Diversos autores han documentado la capacidad de *P. miliaceum* de evitar la bioacumulación de este metal (Conesa et al., 2007d; Kabas et al., 2012; Zornoza et al., 2012a) así como de *H. stoechas* (Conesa et al., 2011a; Gomez-Ros et al., 2013), de *H. hirta* (Gómez-Ros et al., 2013), *L. caesium* (Conesa et al., 2011a) y *L. spartum* (Conesa et al., 2007d). Al contrario de lo observado en Santa Antonieta, Kabas et al. (2012) documentaron un  $FB > 1$  en *A. halimus*.

Como se ha comentado anteriormente, ninguna especie bioacumuló Zn. La bibliografía consultada a este respecto muestra resultados similares para *A. halimus* (Kabas et al., 2012), *H. stoechas* (Conesa et al., 2011a; Gomez-Ros et al., 2013), *H. hirta* (Gomez-Ros et al., 2013), *L. caesium* (Conesa et al., 2011a), *L. spartum* (Conesa et al., 2007d) y *P. miliaceum* (Kabas et al., 2012; Zornoza et al., 2012b). La aplicación de lodo de mármol redujo las fracciones soluble e intercambiable de este metal mediante la formación de carbonatos metálicos, lo que ha podido disminuir su absorción. Por otro lado, Gómez-Ros et al. (2013) indicaron que en suelos altamente contaminados, el FB puede resultar muy

bajo debido a la gran concentración de metales en el suelo en comparación con los niveles en planta (afirmación que se deduce directamente de ecuación 5). Este hecho puede enmascarar cantidades excesivamente altas de metales en los tejidos vegetales, que pueden suponer un riesgo de transferencia de metales a la cadena trófica, como es el caso de *A. halimus* y *P. saxatile* en este estudio.

No se han encontrado referencias acerca de la bioacumulación de metales y As por parte de *C. albidus*, *L. dentata* y *P. saxatile*, por lo que este proyecto parece ser el primero en documentarlas.

## 5 CONCLUSIONES.

---

La combinación de lodo de mármol, purín y estiércol de cerdo ha demostrado ser eficiente en la rehabilitación de la balsa de residuos de la mina Santa Antonieta mediante fitoestabilización asistida. La aplicación de estas enmiendas permitió aumentar el pH del suelo, la CIC, el contenido de MO y nutrientes, mejorar la estructura edáfica y reducir la movilidad de los metales pesados/metaloides, lo que a su vez posibilitó la activación de la actividad microbiana en el suelo y el desarrollo de una comunidad vegetal que parece desarrollarse de forma cada vez más autosostenible. Otro indicio de la mejora de las condiciones del suelo es la presencia insectos y la entrada de algunos mamíferos. A pesar de ello, ante la falta de diferencias significativas en el contenido de NT, puede ser necesaria una segunda aplicación de enmiendas orgánicas ricas en este elemento, para que el crecimiento vegetal no se vea limitado a largo plazo. Otra de las posibles soluciones puede ser la introducción de especies vegetales que aporten importantes cantidades de N, como *Z. fabago* o leguminosas como *C. intermedia* o *D. pentaphyllum*, adaptadas a las condiciones de este tipo de suelos, aunque esta medida requiere un monitoreo temporal de los resultados. Por otra parte, las especies vegetales *L. spartum*, *L. caesium*, *P. miliaceum* e *H. hirta* han demostrado ser efectivas en estrategias de fitoestabilización, ya que no bioacumularon metales ni As ni los translocaron hacia las partes aéreas, reduciendo el riesgo de entrada de metales/metaloides a la cadena trófica. *A. halimus* y *P. saxatile* presentaron concentraciones fitotóxicas de Zn en las hojas, y sobrepasaron los límites de toxicidad para animales domésticos establecidos por el National Research Council (2005). Además, la primera especie mostró una tendencia a translocar Cu hacia las hojas y, en el caso de *P. saxatile*, esta tendencia se observó para todos los metales. Por ello, de acuerdo con nuestros resultados, se debería evitar el empleo de *A. halimus* en suelos contaminados con altas concentraciones de Cu y Zn. En relación a *P. saxatile*, no parece adecuada para fitoestabilización. Aun así, este es el primer estudio que documenta los niveles de As, Cd, Cu, Pb

## CONCLUSIONES.

---

y Zn en raíz/parte aérea de *P. saxatile* y *C. albidus*, por lo que sería interesante realizar estudios adicionales en otras áreas mineras. Cabe señalar que los resultados obtenidos para la fracción biodisponible de los metales, extraída con DTPA, están basados en los criterios establecidos para suelos agrícolas, con unas características muy diferentes a las de los suelos generados a partir de estériles mineros. Por ello, sería necesario llevar a cabo estudios que determinen qué fracciones concretas se obtienen con dicho extractante en suelos mineros, para poder conocer realmente el comportamiento de los metales en estos suelos y si efectivamente existen riesgos potenciales de entrada en la cadena trófica.

## 6 BIBLIOGRAFÍA.

---

- Abreu, M., Santos, E., Magalhaes, M., & Fernandes, E. (2012). Trace elements tolerance, accumulation and translocation in *Cistus populifolius*, *Cistus salviifolius* and their hybrid growing in polymetallic contaminated mine areas. *Journal of Geochemical Exploration*, 123, 52-60.
- Acosta, J., Faz, Á., Martínez-Martínez, S., Zornoza, R., Carmona, D., & Kabas, S. (2011). Multivariate statistical and GIS-based approach to evaluate heavy metals behavior in mine sites for future reclamation. *Journal of Geochemical Exploration*, 109, 8-17.
- Acosta-Martínez, V., & Tabatabai, M. (2001). Arylamidase activity in soils: effect of trace elements and relationships to soil properties and activities of amidohydrolases. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 17-23.
- Alcaraz, F., Botías, M., García, R., Ríos, S., Rivera, D., & Robledo, A. (2014). *Flora básica de la Región de Murcia* (3ª ed.). Murcia: Diego Marín.
- Allan, R. J. (1995). Impact of Mining Activities on the Terrestrial and Aquatic Environment with Emphasis on Mitigation and Remedial Measures. En W. Salomons (Ed.), *Heavy metals: problems and solutions* (págs. 119-140). Berlín: Springer-Verlag.
- Alloway, B. (1995). *Heavy metals in soils* (2ª ed.). London: Blackie Academic & Professional.
- Alvarenga, P., Gonçalves, A., Fernandes, R., de Varennes, A., Vallini, G., Duarte, E., & Cunha-Queda, A. (2009). Organic residues as immobilizing agents in aided phytostabilization:(I). Effects on soil chemical characteristics. *Chemosphere*, 74, 1292-1300.
- Alvarenga, P., Palma, P., Gonçalves, A., Baiao, N., Fernandes, R., de Varennes, A., . . . Cunha-Queda, A. (2008). Assessment of chemical, biochemical and ecotoxicological aspects in a mine soil amended with sludge of either urban or industrial origin. *Chemosphere*, 72, 1774-1781.

- Alvarenga, P., Palma, P., Gonçalves, A., Fernandes, R., De Varennes, A., Vallini, G., . . . Cunha-Queda, A. (2009). Organic residues as immobilizing agents in aided phytostabilization: (II) Effects on soil biochemical and ecotoxicological characteristics. *Chemosphere*, 74, 1301-1308.
- AMS Group. *Used reconditioned machinery for marble and granite*. (s.f.). Recuperado el 13 de marzo de 2015, de <http://www.amsgroupnet.com/c/spa-c.html>
- Anderson, J. (1982). Soil respiration. En A. Page, R. Miller, & D. Keeney (Edits.), *Methods of soil analysis. Part 2* (2ª ed., págs. 837-871). Madison, WI: American Society of Agronomy and Soil Science Society of America.
- Antoniadis, V., & Alloway, B. (2002). The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environmental Pollution*, 117, 515-521.
- Balsas, P. (2008). *Panoramio*. Recuperado el 19 de febrero de 2015, de <http://www.panoramio.com/user/1843990/tags/Sierra%20minera%20Cartagena-La%20Uni%C3%B3n-Mazarr%C3%B3n>
- Barker, A. (1997). Composition and uses of compost. En J. Rechling , & H. Mackimon (Edits.), *Agricultural uses of by-products and wastes. ACS Symposium Series No. 668, vol. 10* (págs. 140-162). Washigton, DC: American Chemical Society.
- Bassett, I., & Crompton, C. (1978). The biology of Canadian weeds. 32. *Chenopodium album* L. *Can. J. Plant. Sci.*, 58, 1061-1072.
- Belmonte, F., Romero, A., Alonso, F., Moreno, J., & Rojo, S. (2010). Afección de suelos agrícolas por metales pesados en áreas limítrofes a explotaciones mineras del surest de España. *Papeles de Geografía*, 51-52, 45-54.
- Benito, B. (2012). Apuntes de clase. Encuadre sistemático de las gramíneas. E.T.S. de Ingenieros de Montes. Universidad Politécnica de Madrid. Recuperado el 3 de marzo de 2015, de

<http://www2.montes.upm.es/dptos/dptosilvopascicultura/PDF%20general%20Web/Benito/1.%20MORFOLOGIA%20DE%20GAM%C3%8DNEAS.pdf>

- Bes, C. M., Pardo, T., Bernal, M., & Clemente, R. (2014). Assessment of the environmental risks associated with two mine tailing soils from the La Unión-Cartagena (Spain) mining district. *Journal of Geochemical Exploration*, 147, 98-106.
- Borie, F., & Fuentealba, R. (1982). Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas. II. Actividad ureásica. *Agricultura Técnica*, 42, 135-142.
- Brady, N. (1984). *The nature and properties of soils* (9ª ed.). New York: Macmillan Publishing Company.
- Brallier, S., Harrison, R., Henry, C., & Dongsen, X. (1996). Liming effects on availability of Cd, Cu, Ni and Zn in a soil amended with sewage sludge 16 years previously. *Water, Air and Soil Pollution*, 86, 195-206.
- Brooks, R. R. (1998). *Plants that hyperaccumulate heavy metals: their role in Phytoremediation, Microbiology, Archaeology, Mineral Exploration and Phytomining*. Wallingford, UK: CAB International.
- Campbell, D., & Henshall, J. (1991). Bulk density. En K. Smith, & C. Mullins (Edits.), *Soil analysis: physical methods* (págs. 329-366). NY: Marcel Dekker, Inc.
- Cao, X., Ma, L., & Shiralipour, A. (2003). Effects of compost and phosphate amendments on arsenic mobility in soils and arsenic uptake by the hyperaccumulator, *Pteris vittata* L. *Environmental pollution*, 126, 157-167.
- Carmona, D. M., Zornoza, R., Faz, Á., Martínez-Martínez, S., & Acosta, J. A. (2011). Reclamation of Contaminated Mine Ponds Using Marble Wastes, Organic Amendments and Phytoremediation. En I. Sherameti, & A. Varma (Edits.), *Detoxification of Heavy Metals* (Vol. 30, págs. 111-128). Springer Science and Business Media.



- Carmona, D., Faz, Á., & Arocena, J. (2009). Cadmium, copper, lead and zinc in secondary sulfate minerals in soils of mined areas in Southeast Spain. *Geoderma*, 150, 150-157.
- Castillo, F., Roldán, M., Blasco, R., Huertas, M., Caballero, F., Moreno-Vivián, C., & Martínez, M. (2005). *Biotecnología ambiental*. Madrid: Tébar.
- Chapman, H. (1965). Cation Exchange Capacity. En C. Black (Ed.), *Methods of soil analysis* (págs. 891-901). Madison, WI: American Society of Agronomy.
- Chirinos, M. (1999). Recomendación de la fertilización potásica. *Informaciones agronómicas*, 3, 2-4.
- Clemente, R., & Bernal, M. (2006). Fractionation of heavy metals and distribution of organic carbon in two contaminated soils amended with humic acids. *Chemosphere*, 64, 1264-1273.
- Clemente, R., Escolar, A., & Bernal, M. (2006). Heavy metals fractionation and organic matter mineralization in contaminated calcareous soil amended with organic materials. *Bioresource Technology*, 97, 1894-1901.
- Clemente, R., Walker, D., Pardo, T., Martínez-Fernández, D., & Bernal, M. (2012). The use of halophytic plant species and organic amendments for the remediation of a trace elements-contaminated soil under semi-arid conditions. *Journal of hazardous materials*, 223-224, 63-71.
- Conesa, H., María-Cervantes, A., Álvarez-Rogel, J., & González-Alcaraz, M. (2011). Influence of soils properties on trace element availability and plant accumulation in a Mediterranean salt marsh polluted by mining wastes: Implications for phytomanagement. *Science of the Total Environment*, 409, 4470-4479.
- Conesa, H., & Faz, Á. (2011). Metal uptake by spontaneous vegetation in acidic mine tailings from a semiarid area in South Spain: implications for revegetation and land management. *Water Air Soil Pollut*, 215, 221-227.

- Conesa, H., Faz, Á., & Arnaldos, R. (2006). Heavy metal accumulation and tolerance in plants from mine tailings of the semiarid Cartagena-La Unión Mining District (SE Spain). *Science of the Total Environment*, 366, 1-11.
- Conesa, H., Faz, Á., & Arnaldos, R. (2007). Initial studies for the phytostabilization of a mine tailing from the Cartagena-La Unión Mining District (SE Spain). *Chemosphere*, 66, 38-44.
- Conesa, H., García, G., Faz, Á., & Arnaldos, R. (2007). Dynamics of metal tolerant plant communities' development in mine tailings from the Cartagena-La Unión Mining District (SE Spain) and their interest for further revegetation purposes. *Chemosphere*, 68, 1180-1185.
- Conesa, H., Moradi, A., Robinson, B., Kühne, G., Lehmann, E., & Schulín, R. (2009). Response of native grasses and *Cicer arietinum* to soil polluted with mining wastes: Implications for the management of land adjacent to mine sites. *Environmental and experimental botany*, 65, 198-204.
- Conesa, H., Robinson, B., Schulín, R., & Nowack, B. (2007). Growth of *Lygeum spartum* in acid mine tailings: response of plants developed from seedlings, rhizomes and at field conditions. *Environmental pollution*, 145, 700-707.
- Conesa, H., Robinson, B., Schulín, R., & Nowack, B. (2008). Metal extractability in acidic and neutral mine tailings from the Cartagena-La Unión Mining District (SE Spain). *Applied Geochemistry*, 23, 1232-1240.
- Conesa, H., Schulín, R., & Nowack, B. (2007). A laboratory study on revegetation and metal uptake in native plant species from neutral mine tailings. *Water Air Soil Pollution*, 183, 201-212.
- Conesa, H., Wieser, M., Gasser, M., Hockmann, K., Evangelou, M., Studer, B., & Schulín, R. (2010). Effects of three amendments on extractability and fractionation of Pb, Cu, Ni and Sb in two shooting range soils. *Journal of hazardous materials*, 181, 845-850.
- Cortés, J., & Guillén, A. (2010). Segunda unidad del curso de Química III. Industria Minero-Metalúrgica. Procesos de extracción y concentración de

- minerales. Escuela Nacional Colegio de Ciencias y Humanidades. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cui, Y., Du, X., Weng, L., & van Riemsdijk, W. (2010). Assessment of in situ immobilization of lead (Pb) and arsenic (As) in contaminated soils with phosphate and iron: solubility and bioaccessibility. *Water Air Soil Pollution*, 213, 95-104.
- Cunningham, S., & Ow, D. (1996). Promises and prospects of phytoremediation. *Plant physiology*, 110, 715-719.
- Dazy, M., Jung, V., Férrar, J., & Masfaraud, J. (2008). Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: role of plant antioxidant enzymes and possible implications in site restoration. *Chemosphere*, 74, 57-63.
- De Haro, A., Pujadas, A., Polonio, A., Font, R., Vélez, D., Montoro, R., & Del Río, M. (2000). Phytoremediation of the polluted soils after the toxic spill of the Aznalcóllar mine by using wild species collected in situ. *Fresenius Envir Bull*, 9, 275-280.
- De la Fuente, V., Rufo, L., Rodríguez, N., Amils, R., & Zuluaga, J. (2010). Metal accumulation screening of the Rio Tinto Flora (Huelva, Spain). *Biol Trace Elem Res*, 134, 318-341.
- De Santiago, A. (2013). *Papel de los constituyentes edáficos en la disponibilidad de metales pesados en suelos calcáreos de uso agrícola del área mediterránea. Enfoque químico y biológico*. Memoria para optar al Título de Doctor en Farmacia. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- De Varennes, A., Qu, G., Cordovil, C., & Gonçalves, P. (2011). Soil quality indicators response to application of hydrophylic polymers to a soil from a sulfide mine. *Journal of hazardous materials*, 192, 1836-1841.
- Del Rio, M., Font, R., Almela, C., Vélez, D., Montoro, R., & De Haro- Bailón, A. (2002). Heavy metals and arsenic uptake by wild vegetation in the Guardamar river area after the toxic spill of the Aznalcóllar mine. *Journal of Biotechnology*, 98, 125-137.

- Del Río-Celestino, M., Font, R., Moreno-Rojas, R., & De Haro-Bailón, A. (2006). Uptake of lead and zinc by wild plants growing on contaminated soils. *Industrial Crops and Products*, 24, 230-237.
- Díez, J. (1982). Consideraciones sobre la utilización de la técnica extractiva de Burriel-Hernando para la evaluación de fósforo asimilable en suelos. *Anal. Edaf. Agrobiol*, 41, 1345-1353.
- Direct Industry. (s.f.). Recuperado el 13 de marzo de 2015, de <http://www.directindustry.es/prod/breton-natural-compound-stone-division/maquinas-corte-hilo-diamantado-granito-2-ejes-69464-977271.html>
- El-Baruni, B., & Olsen, S. (1979). Effect of manure on solubility of phosphorus in calcareous soils. *Soil Science*, 128, 219-225.
- Ernst, W. (1996). Bioavailability of heavy metals and decontamination of soils by plants. *Applied Geochemistry*, 11, 163-137.
- España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural. (2011). *Plan de control y eliminación de especies vegetales invasoras de sistemas dunares. Oxalis pes-caprae*. Madrid: Autor.
- Espejo, C., & García, R. (2009,septiembre). Tratamiento de purines de ganado porcino en España para minimizar la contaminación de suelos y su impacto ambiental. *Advances in studies on desertification: Contributions to the International Conference on Desertification in memory of professor John B. Thormes*, (págs. 673-676). Murcia, España.
- FAO. (2001). *Soil carbon sequestration for improved land management. World Soil Resources Reports*, 96. Rome: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS.
- Fernández-Caliani, J., & Barba-Brioso, C. (201). Metal immobilization in hazardous contaminated minesoils after marble slurry waste application. A field assessmet at the Tharsis Mining District (Spain). *Journal of hazardous materials*, 181, 817-826.

- Fornes, F., García-de-la-Fuente, R., Belda, R., & Abad, M. (2009). 'Alperujo' compost amendment of contaminated calcareous and acidic soils: Effects on growth and trace element uptake by five Brassica species. *Bioresource Technology*, *100*, 3982-3990.
- Freitas, H., Prasad, M., & Pratas, J. (2004). Analysis of serpentinophytes from north-east of Portugal for trace metal accumulation-relevance to the management of mine environment. *Chemosphere*, *54*, 1625-1642.
- Fundación Sierra Minera. (2007). *Centro de Interpretación de la Mina Las Matildes*. Recuperado el 7 de enero de 2015, de <http://www.fundacionsierraminera.org/MinaMatilde/sierraminera/sierraminera2.asp>
- García, G., Peñas, J., & Manteca, J. (2008). Zn mobility and geochemistry in surface sulfide mining soils from SE Spain. *Environmental Research*, *106*, 333-339.
- Gómez, M. (2014). *Efectos ambientales de la valorización agronómica de purines de ganado porcino: Dinámica del nitrógeno en el sistema suelo-agua-planta*. Tesis doctoral, Departamento de Ciencia y Tecnología agraria. ETSIA Universidad Politécnica de Cartagena.
- Gomez-Ros, H., Garcia, G., & Peñas, J. (2013). Assessment of restoration success of former metal mining areas after 30 years in a highly polluted Mediterranean mining area: Cartagena-La Unión. *Ecological Engineering*, *57*, 393-402.
- González, V., García, I., Del Moral, F., De Haro, S., Sánchez, J., & Simón, M. (2011). Impact of unconfined sulfur-mine waste on a semi-arid environment (Almería, SE Spain). *Journal of Environmental Management*, *92*, 1509-1519.
- Hernández, A., Martín-Aparicio, A., & Pastor, J. (2009). Evaluación como enmienda de la aplicación de lodos de depuradora en suelos de mina erosionados y contaminados. En J. Sánchez, & S. Sainz (Edits.), *Control*

- de la degradación de los suelos y cambio global.* (págs. 131-133). Valencia: Universitat de Valencia y Generalitat Valenciana.
- Hernández, J., Barbazán, M., & Perdomo, C. (2010). Apuntes de clase del Curso de fertilidad de suelos y su manejo. *Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Montevideo.*
- Herrera, J. (2006). Apuntes de clase del curso de Laboreo I. *Métodos de minería a cielo abierto.* Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas. Universidad Politécnica de Madrid.
- Herrera, T., Ortiz, J., Delgado, A., & Acosta, J. (2014). Contenido de osmoprotectores, ácido ascórbico y ascorbato peróxidasa en hojas de frijol sometidas a estrés por sequía. *Revista mexicana de ciencias agrícolas, 5,* 859-870.
- Higuera, P., & Oyarzun, R. (s.f.). Apuntes del Curso de Minería y Medio Ambiente. Universidad de Castilla-La Mancha. Recuperado el 7 de enero de 2015, de <http://www.uclm.es/users/higuera/MAM/index.htm>
- Instituto de Fomento Región de Murcia. (2014). *Informe Sectorial. El sector del mármol y piedra natural en La Región de Murcia.*
- Irañeta, I., Santos, Á., & Abaigar, A. (2002). Purín de porcino: ¿fertilizante o contaminante? *Navarra Agraria, 132,* 9-24. Recuperado el 10 de enero de 2015, de [http://www.ruralcat.net/c/document\\_library/get\\_file?uuid=5bb208e2-e54e-48c8-a43f-340913a69ff0&groupId=10136](http://www.ruralcat.net/c/document_library/get_file?uuid=5bb208e2-e54e-48c8-a43f-340913a69ff0&groupId=10136)
- IUSS (International Union of Soil Sciences). (2014). *World reference base for soil resources 2006.* World Soil Resources Reports No. 103. FAO, Rome.
- Jin, C. W., Zheng, S. J., He, Y. F., Zhou, G. D., & Zhou, Z. X. (2005). Lead contamination in tea garden soils and factors affecting its bioavailability. *Chemosphere, 59,* 1151-1159.

- Jordán, A. (2005). Apuntes de clase. *Manual de Edafología*. Departamento de Cristalografía, Mineralogía y Química Agrícola de la Universidad de Sevilla.
- Kabas, S., Arocena, J., Acosta, J., Faz, Á., Martínez-Martínez, S., Zornoza, R., & Carmona, D. (2014). Syrian Bean-Caper (*Zygophyllum Fabago* L.) improves organic matter and other properties of mine wastes deposits. *International Journal of Phytoremediation*, 16, 366-378.
- Kabas, S., Faz, Á., Acosta, J., Arocena, J., Zornoza, R., Martínez-Martínez, S., & Carmona, D. M. (2014). Marble wastes and pig slurry improve the environmental and plant-relevant properties of mine tailings. *Environ Geochem Health*, 36, 41-54.
- Kabas, S., Faz, Á., Acosta, J., Zornoza, R., Martínez-Martínez, S., Carmona, D., & Bech, J. (2012). Effects of marble waste and pig slurry on the growth of native vegetation and heavy metal mobility in a mine tailing pond. *Journal of Geochemical Exploration*, 123, 69-76.
- Kabata-Pendias, A. (1995). Agricultural Problems Related to Excessive Trace Metal Contents of Soils. En W. Salomons (Ed.), *Heavy metals: problems and solutions* (págs. 3-18). Berlín: Springer-Verlag.
- Kabata-Pendias, A. (2011). *Trace elements in soils and plants* (4ª ed.). Boca Ratón: Taylor and Francis Group.
- Karami, N., Clemente, R., Moreno-Jiménez, E., Lepp, N., & Beesley, L. (2011). Efficiency of green waste compost and biochar soil amendments for reducing lead and copper mobility and uptake to ryegrass. *Journal of hazardous materials*, 191, 41-48.
- Krull, E., Skjemstad, J. O., & Baldock, J. A. (2004). *Functions of soil organic matter and the effect on soil properties*. Cooperative Research Centre for Greenhouse Accounting.
- Lagomarsino, A., Mench, M., Marabottini, R., Pignataro, A., Grego, S., Renella, G., & Stazi, S. (2011). Copper distribution and hydrolase activities in a

- contaminated soil amended with dolomitic limestone and compost. *Ecotoxicology and environmental safety*, 74, 2013-2019.
- Lee, S., Park, H., Koo, N., Hyun, S., & Hwang, A. (2011). Evaluation of the effectiveness of various amendments on trace metals stabilization by chemical and biological methods. *Journal of hazardous materials*, 188, 44-51.
- Lefèvre, I., Marchal, G., Meerts, P., Corréal, E., & Lutts, S. (2009). Chloride salinity reduces cadmium accumulation by the Mediterranean halophyte species *Atriplex halimus* L. *Environmental and experimental botany*, 65, 142-152.
- Li, T., Tao, Q., Liang, C., Shohag, M., Yang, X., & Sparks, D. L. (2013). Complexation with dissolved organic matter and mobility control of heavy metals in the rhizosphere of hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *Environmental Pollution*, 182, 248-255.
- López, J., Oyarzun, R., García, E., López, S., & Manteca, J. (2010). *Geografía 3: El Distrito Minero de La Unión. Plomo, zinc, plata y estaño en la Sierra de Cartagena. (Geografías GEMM. Serie Distritos Mineros. N°3)*. Lillo, J., López, I., López, J. A., Oyarzun, R. Recuperado el 8 de enero de 2015, de [http://www.aulados.net/GEMM/Geografias/Geo\\_La\\_Union.pdf](http://www.aulados.net/GEMM/Geografias/Geo_La_Union.pdf)
- Lutts, S., Lefèvre, I., Delpere, C., Kivits, S., Dechamps, C., Robledo, A., & Correal, E. (2004). Heavy metal accumulation by the halophyte species Mediterranean saltbush. *Journal of Environmental Quality*, 33, 1271-1279.
- Madejón, E., Pérez de Mora, A., Felipe, E., Burgos, P., & Cabrera, F. (2006). Soil amendments reduce trace element solubility in a contaminated soil and allow regrowth of natural vegetation. *Environmental pollution*, 139, 40-52.
- Manousaki, E., & Kalogerakis, N. (2011). Halophytes-An Emerging Trend in Phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 13, 959-969.



- Manteca, J. I. (1992). Los yacimientos Zn, Pb, Ag-Fe del Distrito Minero de La Unión-Cartagena, Bética Oriental. En J. M. J. García, *Recursos minerales de España* (págs. 1085-1102). Madrid: CSIC.
- Martínez, E., Fuentes, J., & Acevedo, E. (2008). Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 8, 68-96.
- Martínez, M. J., & Pérez, C. (2007). *Niveles de fondo y niveles genéricos de referencia de metales pesados en suelos de la Región de Murcia*. Murcia: Universidad de Murcia; Región de Murcia, Consejería de Desarrollo Sostenible y Ordenación del Territorio.
- Martínez-Martínez, S., Murcia, F., Zornoza, R., Faz, Á., Acosta, J., Sánchez-Medrano, R., & Gómez, M. (2014, noviembre). Influencia de la fitoestabilización asistida sobre la fertilidad y movilidad de Pb-Zn en un depósito minero del sureste español. *Congreso Nacional de Medio Ambiente*. Madrid, España.
- Martínez-Pagán, P., Faz, Á., Acosta, J., Carmona, D., & Martínez-Martínez, S. (2011). A multidisciplinary study for mining landscape reclamation: a study case on two tailing ponds in the Región de Murcia (SE Spain). *Physics and Chemistry of the Earth*, 36, 1331-1344.
- Martos, P. (2009, febrero). *El paisaje minero de la Sierra de Cartagena-La Unión como paisaje cultural. Del abandono y el expolio a la protección y recuperación del patrimonio de la Sierra Minera*. Comunicación presentada en el V Congreso para la Conservación del Patrimonio Industrial y de la Obra Pública en España, Ferrol, España. Recuperado el 7 de enero de 2015, de [http://www.fundacionsierraminera.org/ficheros/redes/02\\_Redets\\_04\\_05\\_2009\\_23\\_32\\_48.pdf](http://www.fundacionsierraminera.org/ficheros/redes/02_Redets_04_05_2009_23_32_48.pdf)
- Medina, M. (2012). *Caracterización bioquímica y microbiológica de un suelo de pradera de «dactylis glomerata» y «medicago sativa» bajo diferentes proporciones de siembra*. Salamanca: Universidad de Salamanca.

- Mendez, M., & Maier, R. (2008). Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments-an emerging remediation technology. *Environmental Health Perspectives*, 116, 278-283.
- Moore, J., & Luoma, S. (1990). Hazardous wastes from large-scale metal extraction. *Environmental Science and Technology*, 24, 1278-1285.
- Moreno-Jiménez, E., Vázquez, S., Carpena-Ruiz, R., Esteban, E., & Peñalosa, J. (2011). Using Mediterranean shrubs for the phytoremediation of a soil impacted by pyritic wastes in Southern Spain: a field experiment. *Journal of environmental management*, 92(6), 1584-1590.
- Nannipieri, P., Ceccanti, B., Cervelli, S., & Matarese, E. (1980). Extraction of phosphatase, urease, proteases, organic carbon and nitrogen from soil. *Soil Science Society of America*, 44, 1011-1016.
- Navarro, M., Pérez, C., Martínez, M. J., Vidal, J., Tovar, P., & Bech, J. (2008). Abandoned mine sites as a source of contamination by heavy metals: a case in a semi-arid zone. *Journal of Geochemical Exploration*, 96(2), 183-193.
- Oades, J., & Waters, A. (1991). Aggregate hierarchy in soils. *Soil Research*, 29, 815-828.
- Ottenhof, C., Faz, Á., Arocena, J., Nierop, K., Verstraten, J., & van Mourik, J. (2007). Soil organic matter from pioneer species and its implications to phytostabilization of mined sites in the Sierra de Cartagena (Spain). *Chemosphere*, 69, 1341-1350.
- Paradelo, R., Villada, A., & Barral, M. (2011). Reduction of the short-term availability of copper, lead and zinc in a contaminated soil amended with municipal solid waste compost. *Journal of hazardous materials*, 188, 98-104.
- Pardo, T., Clemente, R., & Bernal, M. (2011). Effects of compost, pig slurry and lime on trace element solubility and toxicity in two soils differently affected by mining activities. *Chemosphere*, 84, 642-650.

- Pardo, T., Clemente, R., Epelde, L., Garbisu, C., & Bernal, M. (2014). Evaluation of the phytostabilization efficiency in a trace elements contaminated soil using soil health indicators. *Journal of hazardous materials*, 268, 68-76.
- Parfitt, R., Giltrap, D., & Whitton, J. (1995). Contribution of organic matter and clay minerals to the cation exchange capacity of soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26, 1343-1355.
- Park, J., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N., & Chung, J. (2011). Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. *Journal of hazardous materials*, 185, 549-574.
- Parra, A., Zornoza, R., Conesa, E., Gómez-López, M., & Faz, Á. (2014). Seedling emergence, growth and trace elements tolerance and accumulation by Lamiaceae species in a mine soil. *Chemosphere*, 113, 132-140.
- Parraga-Aguado, I., Gonzalez-Alcaraz, M., Alvarez-Rogel, J., Jimenez-Carceles, F., & Conesa, H. (2013). The importance of edaphic niches and pioneer plant species succession on the phytomanagement of mine tailings. *Environmental Pollution*, 176, 134-143.
- Peña, A., Mingorance, M., Guzmán-Carrizosa, I., & Fernández-Espinosa, A. (2015). Improving the mining soil quality for a vegetation cover after addition of sewage sludges: Inorganic ions and low-molecular-weight organic acids in the soil solution. *Journal of Environmental Management*, 150, 216-225.
- Perdomo, C., Barbazán, M., & Durán, J. (s.f.). Nitrógeno. Área de Suelos y Aguas. Cátedra de Fertilidad. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay. Recuperado el 16 de febrero de 2015, de <http://www.fagro.edu.uy/~fertilidad/publica/Tomo%20N.pdf>
- Pérez de Mora, A., Burgos, P., Madejón, E., Cabrera, F., Jaekel, P., & Schloter, M. (2006). Microbial community structure and function in a soil

- contaminated by heavy metals: effects of plant growth and different amendments. *Soil Biology & Biochemistry*, 38, 327-341.
- Pérez de Mora, A., Madejón, E., Burgos, P., & Cabrera, F. (2006). Trace element availability and plant growth in a mine-spill contaminated soil under assisted natural remediation I. Soils. *Science of the total environment*, 363, 28-37.
- Pérez de Mora, A., Madejón, E., Burgos, P., & Cabrera, F. (2006). Trace element availability and plant growth in a mine-spill-contaminated soil under assisted natural remediation II. Plants. *Science of Total Environment*, 363, 38-45.
- Pérez-Esteban, J., Escolástico, C., Masaguer, A., Vargas, C., & Moliner, A. (2014). Soluble organic carbon and pH of organic amendments affect metal mobility and chemical speciation in mine soils. *Chemosphere*, 103, 164-171.
- Pérez-Esteban, J., Escolástico, C., Ruiz-Fernández, J., Masaguer, A., & Moliner, A. (2013). Bioavailability and extraction of heavy metals from contaminated soil by *Atriplex halimus*. *Environmental and experimental botany*, 88, 53-59.
- Peeverill, K., Sparrow, L., & Reuter, D. (1999/2001). *Soil analysis: an interpretation manual*. (2ª Reimpresión. ed.). Melbourne: CSIRO Publishing.
- Ponizovsky, A., Allen, H., & Ackerman, A. (2007). Copper activity in soil solutions of calcareous soils. *Environmental Pollution*, 145, 1-6.
- Porta, J., López-Acevedo, M., & Roquero, C. (2003). *Edafología para la agricultura y el medio ambiente* (3ª ed.). Madrid: Mundi Prensa.
- Poschenrieder, C., Bech, J., Llugany, M., Pace, A., Fenés, E., & Barceló, J. (2001). Copper in plant species in a copper gradient in Catalonia (North East Spain) and their potential for phytoremediation. *Plant and Soil*, 230, 247-256.

- Pueyo, M., López-Sánchez, J., & Rauret, G. (2004). Assessment of CaCl<sub>2</sub>, NaNO<sub>3</sub> and NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> extraction procedures for the study of Cd, Cu, Pb and Zn extractability in contaminated soils. *Analytica Chimica Acta*, 504, 217-226.
- Rabier, J., Laffont-Schwob, I., Pricop, A., Ellili, A., D'Enjoy Weinkammerer, G., Salducci, M., . . . Masotti, V. (2014). Heavy metal and arsenic resistance of the halophyte *Atriplex halimus* L. along a gradient of contamination in a French Mediterranean spray zone. *Water Air Soil Pollut*, 225, 1-16.
- Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias. (s.f.).
- Real Decreto 324/2000, de 3 de marzo, por el que se establecen normas básicas de ordenación de las explotaciones porcinas. (s.f.).
- Región de Murcia Digital*. (s.f.). Recuperado el 8 de enero de 2015, de [https://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,373,m,2910&r=ReP-25317-DETALLE\\_REPORTAJESPADRE](https://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,373,m,2910&r=ReP-25317-DETALLE_REPORTAJESPADRE)
- Región de Murcia Digital*. (s.f.). Recuperado el 8 de enero de 2015, de [https://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,373,m,2910&r=ReP-26871-DETALLE\\_REPORTAJESPADRE](https://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,373,m,2910&r=ReP-26871-DETALLE_REPORTAJESPADRE)
- Región de Murcia. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. (2004). *Referentes para la calidad ambiental y la ecoeficiencia del sector de la construcción en Murcia*.
- Risser, J., & Baker, D. (1990). Testing soils for toxic metals. En R. Westerman (Ed.), *Soil testing and plant analysis* (págs. 275-298). Madison, WI: Soil Science Society of America.
- Rodríguez, L. M., Luque, C., & Gutiérrez, M. (2006). Los registros mineros para sustancias metálicas en Asturias. *Trabajos de Geología. Universidad de Oviedo*, 26, 19-55.
- Rodríguez, R., García, C., Zarroca, M., Roque, C., Linares, R., & Oldecop, L. (2011). Características geológicas y geotécnicas de los lodos de

- flotación en la Sierra Minera de Cartagena-La Unión (SE España). *Boletín geológico y minero*, 122, 127-144.
- Rodríguez-Rubio, P., Morillo, E., Madrid, L., Undabeyia, T., & Maqueda, C. (2003). Retention of copper by a calcareous soil and its textural fractions: influence of amendment with two agroindustrial residues. *European Journal of Soil Science*, 54, 401-409.
- Roig, A., Romero, M., Lax, A., & Fernández, F. (1980). Estudio comparativo de métodos de determinación de capacidad de intercambio catiónica en suelos calizos. *Anal. Edaf. Agrobiol.*, 39, 2021-2032.
- Romero, A., & García, G. (2007). Contaminación por erosión eólica e hídrica de las áreas limítrofes a la antigua zona minera de La Unión (Cartagena). *Revista murciana de antropología*(14), 77-96.
- Sánchez, L. (2005). Apuntes de clase. Asignatura: Química inorgánica y medio ambiente. Tema 8: Suelos y sedimentos. Licenciatura en Química. Universidad de Córdoba.
- Santos, J. (2004). *Estudio para tratar de identificar posibles aplicaciones industriales para los residuos generados en el proceso de corte y elaboración de piedra natural, en concreto del mármol, analizando su viabilidad técnica y económica*. Tesis de Máster. Departament d'Enginyeria Minera i Recursos Naturals. Universitat Politècnica de Catalunya.
- Shannon, C., & Weaver, W. (1963). *The Mathematical Theory of Communication*. Chicago: University of Illinois Press.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., & Denef, K. (2004). A history of research on the link between aggregates, soil biota and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research*, 79, 7-31.
- Sobek, A., Schuller, W., Freeman, J., & Smith, R. (1978). *Field and laboratory methods applicable to over-burdens and minesoils*. EPA-600/2-78-054.
- Sogestone, *soluciones en piedra*. (s.f.). Recuperado el 13 de marzo de 2015, de <http://www.sogestone.com/tecnicas/acabados.html>

- SPSS. (2013). SPSS 22 for Windows Software. SPSS Inc., IBM Company, USA.
- Tabatabai, M. (1982). Soil enzymes. En A. Page, R. Miller, & D. Keeney (Edits.), *Methods of soil analysis. Part 2.* (2ª ed., págs. 501-538). Madison, WI: American Society of Agronomy and Soil Science Society of America.
- Tabatabai, M., & Bremner, J. (1970). Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America*, 34, 225-229.
- Tapia, Y., Díaz, O., Pizarro, C., Segura, R., Vines, M., Zúñiga, G., & Moreno-Jiménez, E. (2013). Atriplex atacamensis and Atriplex halimus resist As contamination in Pre-Andean soils (northern Chile). *Science of the Total Environment*, 450-451, 188-196.
- Teira, R. (2008). *Informe para la mejora de la gestión de los purines porcinos en Catalunya.* Informes del CADS 5. Consell Assesor per al Desenvolupament Sostenible. Generalitat de Catalunya.
- United States Environmental Protection Agency (EPA). (2000). *Folleto informativo de tecnología de biosólidos. Aplicación de biosólidos al terreno.* EPA, Office of water, Washigton, D. C.
- USDA (United States Department of Agriculture). (1999). *Soil quality test kit guide.* Washington, DC: Autor.
- Vaca-Paulin, R., Esteller-Alberich, M., Lugo-De La Fuente, J., & Zavaleta-Mancera, H. (2006). Effect of sewage sludge of compost on the sorption and distribution of copper and cadmium in soil. *Waste management*, 26, 71-81.
- Van Oosten, M., & Maggio, A. (2015). Functional biology of halophytes in the phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Environmental and experimental botany*, 111, 135-146.
- Volke, T., & Velasco, J. (2002). *Tecnologías de remediación para suelos contaminados.* México, D. F.: INE-SEMARNAT.

- Vromman, D., Flores-Bavestrello, A., Slejkovec, Z., Lapaille, S., Teixeira-Cardoso, C., Briceño, M., . . . Lutts, S. (2011). Arsenic accumulation and distribution in relation to young seedling growth in *Atriplex atacamensis* Phil. *Science of the Total Environment*, 412-413, 286-295.
- Walker, D., Lutts, S., Sánchez-García, M., & Correal, E. (2014). *Atriplex halimus* L.: Its biology and uses. *Journal of Arid Environments*, 100-101, 111-121.
- Wong, M. (2003). Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*, 50, 775-780.
- Yang, S., Liao, B., Li, J., Guo, T., & Shu, W. (2010). Acidification, heavy metal mobility and nutrient accumulation in the soil-plant system of a revegetated acid mine wasteland. *Chemosphere*, 80, 852-859.
- Zanuzzi, A., & Faz, Á. (2010). Phytostabilization of lead-polluted sites by native plants. En I. Sherameti, & A. Varma, *Soil Heavy Metals* (págs. 329-336). Springer Science & Business Media.
- Zanuzzi, A., Arocena, J., van Mourik, J., & Faz, Á. (2009). Amendments with organic and industrial wastes stimulate soil formation in mine tailings as revealed by micromorphology. *Geoderma*, 154, 69-75.
- Zhao, L., Schulin, R., Weng, L., & Nowack, B. (2007). Coupled mobilization of dissolved organic matter and metals (Cu and Zn) in soil columns. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71, 3047-3418.
- Zornoza, R., Carmona, D., Acosta, J., Martínez-Martínez, S., Weiss, N., & Faz, Á. (2012). The effect of former mining activities on contamination dynamics in sediments, surface water and vegetation in El Avenque Stream, SE Spain. *Water Air Soil Pollut*, 223, 519-532.
- Zornoza, R., Faz, Á., Carmona, D., Acosta, J., Martínez-Martínez, S., & Vreng, A. (2013). Carbon mineralization, microbial activity and metal dynamics in tailing ponds amended with pig slurry and marble waste. *Chemosphere*, 90, 2606-2613.
- Zornoza, R., Faz, Á., Carmona, D., Kabas, S., Martínez-Martínez, S., & Acosta, J. (2012). Plant cover and soil biochemical properties in a mine tailing



pond five years after application of marble wastes and organic amendments. *Pedosphere*, 22, 22-32.

Zornoza, R., Faz, Á., Martínez-Martínez, S., Acosta, J., Gómez-López, M., & Avilés-Marín, S. (2013). Marble waste and pig slurry increment soil quality and reduce metal availability in a tailing pond. *Terra Latinoamericana*, 31, 105-114.