

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA DE CAMINOS, CANALES Y
PUERTOS Y DE INGENIERÍA DE MINAS



TRABAJO FIN DE MÁSTER

Evaluación de la efectividad del biocarbón para mejorar la estrategia de fitoestabilización asistida de residuos mineros

AUTOR: Walvyn Manuel Segura Capellan

DIRECTORES: Dr. Raúl Zornoza Belmonte
Jacinto Martínez Carlos-Roca

Octubre 2019

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a mis padres José Segura y Altagracia Capellan, y a mis hermanos Erick y José, quienes me han apoyado a lo largo de toda mi formación académica.

De manera especial agradezco a mi maestro el Dr. Raúl Zornoza, quien me guio durante todo el proceso de desarrollo de este trabajo fin de máster y quien a través de sus enseñanzas me ayudo a culminar este trabajo.

A mis maestros la Dra. Silvia Martínez, Dra. María Gabarrón, Dr. José Acosta y al resto del Grupo de Gestión, Aprovechamiento y Recuperación de Suelos y Agua (GARSA), quienes a lo largo del Máster me han brindado su ayuda siempre que me fue necesario.

Agradezco a mi compañero de master Juan Beltrá, quien me ayudó a lo largo de la realización de todos los análisis de laboratorio y siempre compartía sus conocimientos conmigo.

A Eelyn Montero, mi compañera, con quien viví cada etapa de este Máster y a quien agradezco por haberme ayudado a llegar hasta donde estoy ahora.

Por último, agradezco a la Republica Dominicana por confiar en los estudiantes y ayúdalos a superarse.

Resumen

El depósito minero Cabezo Rajao es uno de los muchos depósitos que existen en la actualidad en el distrito minero de Cartagena-La Unión y que se encuentran contaminados por metales pesados debido a que no han recibido ningún tipo de tratamiento. Para evitar la propagación de estos metales al entorno y poner en riesgo los ecosistemas y la población, se propone la utilización de técnicas de fitorremediación asistida para su rehabilitación ambiental. En este trabajo se evaluó la efectividad que tiene el biocarbón para mejorar la estrategia de fitoestabilización asistida a través de la construcción de parcelas en el depósito Cabezo Rajao, en las cuales se aplicaron combinaciones de enmiendas, entre ellas el biocarbón junto con compost y residuo de caliza (carbonato cálcico). Los resultados muestran un incremento significativo del pH con la adición de las enmiendas, que pasa de ser ácido a unos valores medios de 7,6. Esta neutralización del pH ha conducido a una reducción en la movilidad del cadmio, siendo 99% inferior en las parcelas enmendadas que en control sin adición de enmiendas. En general, todas las combinaciones de enmiendas ayudaron a mejorar las propiedades del suelo, principalmente la salinidad, en la cual se observó una disminución significativa en las parcelas en las que se utilizó biocarbón. Tras 120 días de la plantación se verificó la alta capacidad fitoestabilizadora de la especie *Piptatherum miliaceum*, con acumulación de cadmio en la parte aérea por debajo de los niveles de toxicidad y un factor de traslocación inferior a 1 en todas las combinaciones de enmiendas. *Coronilla juncea* mostró los factores de traslocación y bioacumulación mayores que *P. miliaceum*, pero sin sobrepasar el nivel máximo de toxicidad en plantas, siendo también buena candidata para la fitoestabilización.

Contenido

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	ANTECEDENTES	3
3.	OBJETIVOS.....	4
3.1.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
4.1.	DESCRIPCIÓN DE LA ZONA	5
4.2.	DISEÑO EXPERIMENTAL	6
4.3.	MUESTREOS	10
4.3.1.	Primer muestreo	10
4.3.2.	Segundo muestreo	10
4.3.3.	Tercer muestreo.....	11
4.3.4.	Cuarto Muestreo	11
4.4.	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	12
4.4.1.	Densidad Aparente y contenido de humedad	12
4.4.2.	pH real.....	12
4.4.3.	Conductividad eléctrica.....	12
4.4.4.	Carbono orgánico e inorgánico	12
4.4.5.	Carbono recalcitrante.....	12
4.4.6.	Concentración total de Cd.....	12
4.4.7.	Concentración Intercambiable de Cd.....	13
4.4.8.	Concentración Soluble de Cd	13
4.4.9.	Factor de bioacumulación (FB).....	13
4.4.10.	Factor de traslocación (FT).....	13
4.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	14
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
5.1.	DENSIDAD APARENTE Y CONTENIDO DE HUMEDAD	15
5.2.	pH.....	17
5.3.	CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA.....	18
5.4.	CARBONO ORGÁNICO, INORGÁNICO Y RECALCITRANTE.....	19
5.5.	CONCENTRACIÓN TOTAL DE Cd	21
5.6.	CONCENTRACIÓN INTERCAMBIABLE DE Cd.....	22
5.7.	CONCENTRACIÓN SOLUBLE DE Cd	23
5.8.	CONCENTRACIÓN DE Cd EN LOS TEJIDOS DE LAS PLANTAS.....	24
5.9.	FACTOR DE BIOACUMULACIÓN	25
5.10.	FACTOR DE TRASLOCACIÓN	26
6.	CONCLUSIONES	27
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	28

Índice de ilustraciones

Ilustración 1. Terreno donde se ubicarán las parcelas después de los trabajos de nivelación.. ...	8
Ilustración 2. Proceso de homogenización del suelo utilizando un motocultor.....	9
Ilustración 3. Parcelas delimitadas y homogenizadas antes de aplicar las enmiendas.	9
Ilustración 4. Plantación de especies seleccionadas, en fecha 4 marzo de 2019, día en que se realizó el segundo muestreo.....	10
Ilustración 5. Esquema de cómo se distribuyeron las plantas en cada parcela.....	11

Índice de figuras

Figura 1. Distribución de las parcelas para el proyecto Soil Take Care.....	6
Figura 2. Distribución de las parcelas utilizadas para este proyecto	7
Figura 3. Densidad aparente en muestras de suelo analizadas	15
Figura 4. Porcentaje de humedad en muestras de suelo analizadas	16
Figura 5. pH de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas	17
Figura 6. Conductividad eléctrica de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas.....	18
Figura 7. Carbono orgánico de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas .	19
Figura 8. Carbono inorgánico de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas	20
Figura 9. Carbono recalcitrante y lábil de los suelos rizosféricos de las plantas	20
Figura 10. Concentración media de Cadmio (Cd) totales de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas.....	21
Figura 11. Concentración media de Cadmio (Cd) intercambiables de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas	22
Figura 12. Concentración media de Cadmio (Cd) soluble de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas.....	23
Figura 13. Concentraciones medias de cadmio (Cd) totales en las plantas de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas	24
Figura 14. Factor de bioacumulación de las plantas en las diferentes combinaciones de enmiendas.....	25
Figura 15. Factor de traslocación de las plantas en las diferentes combinaciones de enmiendas	26

1. INTRODUCCIÓN

En el sureste de España existen grandes áreas de suelos mineros que se caracterizan por procesos de acidificación, alta salinidad y acumulación de metales, producto de una intensa actividad extractiva de metales (Romero, 2006). La Sierra Minera Cartagena-La Unión es una de estas áreas, donde encontramos suelos contaminados debido a la minería que allí se llevó a cabo durante siglos y cuyos efectos pueden apreciarse en los paisajes de toda la zona conformado por cortas mineras, ramblas con lodos y depósitos donde no crece la vegetación.

En la actualidad estas áreas representan un peligro para todo el ecosistema de la zona, siendo los depósitos mineros el mayor foco de contaminación, ya que estos se ven expuestos a la erosión hídrica, la cual es el principal riesgo ambiental de los residuos mineros y está condicionada por sus propiedades físicas, la fina granulometría de sus partículas y la naturaleza poco cohesiva de los mismos que, combinadas con las condiciones climáticas de la región (lluvias torrenciales en cortos intervalos de tiempo), pueden facilitar la erosión por la escorrentía superficial y con ello contribuir a la contaminación de las masas de agua superficiales y marinas (García García, 2009). Por otra parte, está la erosión eólica, la cual se ve intensificada debido a la falta de cobertura vegetal en los depósitos mineros. Es por ello que el riesgo de erosión hídrica y eólica es uno de los temas ambientales más relevantes debido a sus importantes implicaciones (Martínez-Martínez *et al.*, 2014).

En la última década la Unión Europea ha adoptado una política agroecológica cuyo propósito es encontrar soluciones efectivas para la recuperación de estos depósitos contaminados mediante técnicas o procesos biológicos. Los procesos biológicos tienen las ventajas de requerir inversiones de capital moderadas, bajo consumo de energía, ser ambientalmente seguros y no generar residuos (Moreno *et al.*, 2004).

Existen varias metodologías para tratar suelos contaminados, estas metodologías pueden ser de origen físico, químico y biológico. La técnica más ampliamente utilizada debido a su efectividad y bajo coste es la fitoestabilización asistida.

La fitoestabilización asistida consiste en el establecimiento de una cubierta vegetal autosustentable, adecuada a los requerimientos del emplazamiento, a través de la incorporación de enmiendas orgánicas/inorgánicas (Martínez-Martínez *et al.*, 2014). Estas enmiendas en los suelos permiten mejorar las características físicas, químicas y/o biológicas limitantes del sustrato, asegurando así el establecimiento y el desarrollo de la vegetación a largo plazo. Esta técnica permite reducir la movilidad y biodisponibilidad de contaminantes y recuperar la salud y calidad del suelo (Martínez-Martínez *et al.*, 2014).

Entre las enmiendas comúnmente utilizadas, para la realización de esta técnica, se encuentra los lodos de mármol, el compost y el biocarbón. Los lodos de mármol son desechos residuales del procesamiento del mármol, cuya composición es principalmente carbonato cálcico puro (CaCO_3), y es utilizado por sus propiedades para elevar el pH (Zornoza *et al.*, 2015). En el caso de compost, estos son desechos orgánicos que suelen ser utilizados para aumentar el contenido de materia orgánica y como fuente de nutrientes para estimular la formación de suelos (Zornoza *et al.*, 2015). Por otra parte, el biocarbón, también llamado biochar, es un producto de la degradación térmica de los materiales orgánicos en ausencia de aire (pirólisis), y se distingue del carbón por su uso como enmienda del suelo (Joseph and Lehmann, 2009), es utilizado principalmente por su capacidad de mejorar la fertilidad del suelo debido a su alta capacidad de absorción de agua y retención de nutrientes (Chan *et al.*, 2008).

2. ANTECEDENTES

En los últimos años se ha generado un creciente interés en el biocarbón debido a sus propiedades beneficiosas y sus posibles aplicaciones entre las que se encuentran el secuestro de carbono, la mejora en la fertilidad del suelo, la eliminación de la contaminación y el reciclaje de subproductos o desechos agrícolas (Ahmad *et al.*, 2014).

Ejemplo de ello son los trabajos realizados por Lehmann *et al.* (2008), donde se estudia la posibilidad de utilizar biocarbón para mitigar el cambio climático debido a su capacidad para retener el carbono (C) liberado por los suelos, efecto que tendría lugar a largo plazo con tiempos de residencia medios del carbono de entre 90 y 1600 años, siendo esta estimación conservadora debido a que representan los componentes de carbono lábiles y de estabilidad intermedia (Singh *et al.*, 2012). Se ha estimado que con la producción y aplicación del biocarbón al suelo se podría llegar a reducir en un 12% las emisiones anuales de C-CO₂ equivalentes (Woolf *et al.*, 2010).

En cuanto a la mejora en la fertilidad del suelo, se han realizado estudios que indican que, tras la aplicación de biocarbón en los suelos, estos presentaban una mayor retención y disponibilidad de nutrientes, en relación con una mayor capacidad de intercambio, área de superficie y adiciones directas de nutriente (Glaser *et al.*, 2002). Por otra parte, también se han observados incrementos en el contenido de agua retenida en suelos a los cuales se les ha aplicado biocarbón (Glaser *et al.*, 2002).

Otros estudios han demostrado que, debido a su naturaleza alcalina, el biocarbón es capaz de aumentar el pH en suelos ácidos (Van Zwieten *et al.*, 2010), lo cual ayudaría a reducir la contaminación al disminuir la biodisponibilidad de algunos metales pesados. Además, el biocarbón puede absorber iones metálicos a su superficie por complejos e intercambio iónicos (Zhang *et al.*, 2013).

3. OBJETIVOS

Este trabajo de investigación forma parte del proyecto europeo Soil Take Care el cual se realiza en colaboración con universidades y centros de investigación de España, Francia y Portugal.

Uno de los objetivos principales del proyecto Soil Take Care es el desarrollo de técnicas de fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados. Por esta razón el objetivo principal en este trabajo de investigación es evaluar el efecto de la adición de biocarbón como enmienda orgánica en la dinámica de la materia orgánica, la dinámica del cadmio y el desarrollo de especies vegetales fitoestabilizadoras de residuos mineros en el depósito de Cabezo Rajao.

3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para conseguir llevar a cabo nuestro objetivo principal lo haremos mediante el desarrollo de los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar el efecto del biocarbón en la movilidad del cadmio en el suelo minero y su transferencia a las plantas.
- Evaluar la capacidad del biocarbón para mejorar la eficiencia estabilizadora de dos especies vegetales (*Piptatherum miliaceum* y *Coronilla juncea*).
- Verificar si el biocarbón favorece la formación de suelos con mejora de la estructura edáfica y acumulación de carbono orgánico estable.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. DESCRIPCIÓN DE LA ZONA

Este estudio se llevó a cabo en un depósito de residuos de lodo de flotación a los pies del Cabezo Rajao, ubicado al oeste de la actual población de La Unión, Región de Murcia, España (37°37'09.3"N 0°54'06.7"O). Esta elevación montañosa se caracteriza por tener un gran tajo de unos 500 m de longitud y 30 m de anchura máxima que atraviesa su cumbre en dirección noroeste-sureste. Este fue explotado a gran escala para la extracción de minerales de plomo, plata y zinc durante la época romana y en los siglos XIX y XX, aunque en épocas modernas se trabajaron algunas minas de alumnita y se beneficiaron depósitos estériles y escoriales antiguos (Marín and Huertas, 2007). El depósito de residuos de lodos de flotación seleccionado se caracteriza por su extrema acidez, ausencia de estructura edáfica, alta salinidad, baja fertilidad y alta concentración de metales y metaloides. Como consecuencia, la superficie aparece desnuda sin desarrollo de cubierta vegetal.

La climatología se encuentra condicionada por su ubicación en un sector próximo a la zona litoral del sureste de la Región de Murcia, bajo la influencia del Mar Mediterráneo y el Mar Menor. El clima de la Región de Murcia es mediterráneo semiárido, caracterizado por veranos secos e inviernos húmedos, pero en general con un alto déficit de humedad. La precipitación media anual es del orden de los 300 mm y la temperatura media anual de 17 °C (VV.AA., 1998).

La hidrología de esta zona está condicionada por el tipo de clima. El bajo nivel de precipitaciones y la alta evaporación provocan que en la superficie no exista mucha agua disponible, pero debido a la buena permeabilidad de los suelos agrícolas y al material geológico de esta zona, constituido por calizas y dolomías, hacen que exista agua subterránea disponible.

Entre la fauna típica de la zona destacan algunos reptiles como la lagartija colilarga (*Psammotromus algirus*), el lagarto ocelado (*Lacerta lepida*) y la culebra bastarda (*Malpolon Monspessulanus*). Entre las aves destacan la cogujada común (*Galerida cristata*), collalba negra (*Oenanthe leucura*), perdiz común (*Alectoris rufa*), mochuelo (*Athene noctua*).

La zona adyacente al depósito de lodos de flotación es ampliamente utilizada para cultivar y se pueden diferenciar dos tipos de cultivos, los de secano y los de regadío. En los secanos aparecen plantaciones arbóreas de algarrobos, olivos y almendros. En los de regadío se cultivan cítricos y diferentes tipos de hortalizas. Este hecho justifica la necesidad de implementar acciones de rehabilitación de los suelos mineros para evitar la transferencia de contaminantes a los suelos agrícolas y que puedan tener un efecto negativo en la salud humana.

4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el proyecto Soil Take Care se definieron siete tratamientos diferentes, añadiendo las siguientes enmiendas:

1. Control (sin adición de enmiendas)
2. Caliza+ Biocarbón
3. Caliza + Compost
4. Caliza + Biocarbón+ Compost
5. Caliza +Biocarbón+ Zeolita
6. Caliza+ Compost+ Zeolita
7. Caliza+ Biocarbón+ Compost+ Zeolita

Cada uno de los tratamientos se implementó en campo en parcelas de 3 x 3 m² distribuidas al azar en la superficie del depósito (figura 1). Entre cada fila de parcelas y en todo el perímetro se colocaron láminas de galvanizado de 30 cm de altura con la finalidad de disminuir los efectos de la erosión hídrica en las parcelas.

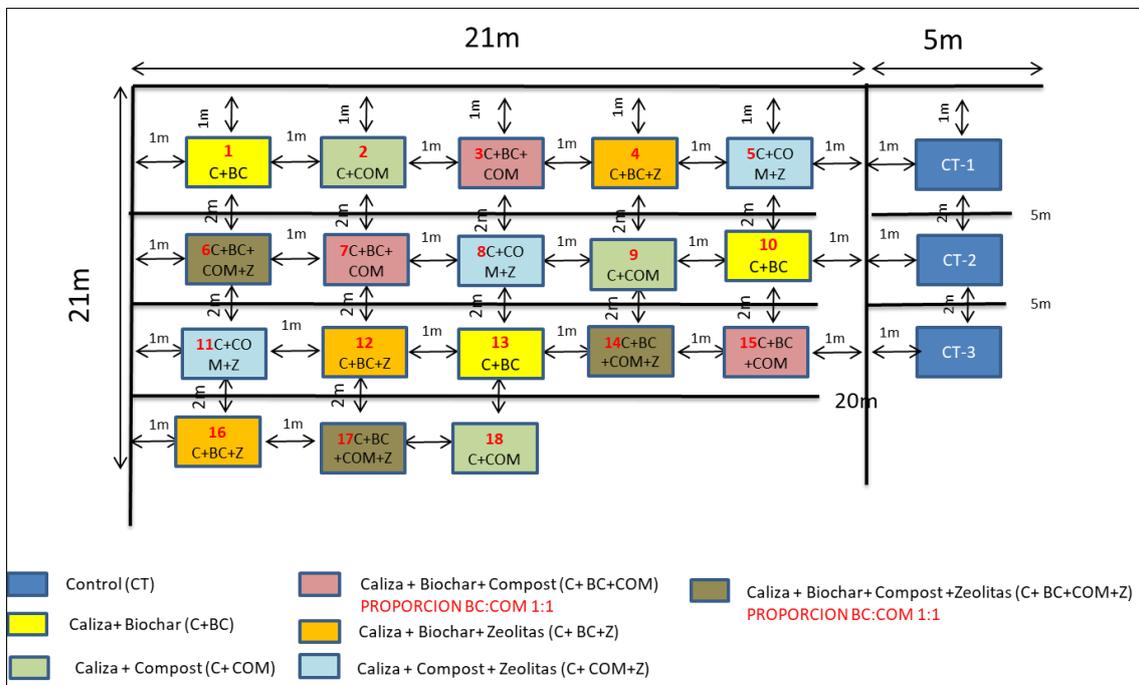


Figura 1. Distribución de las parcelas para el proyecto Soil Take Care.

Es importante destacar que en este trabajo de investigación solo fueron analizadas 12 de las 21 parcelas originales: las que recibieron la combinación de caliza, biocarbón y compost y los respectivos 3 controles, como se muestra en la figura 2.

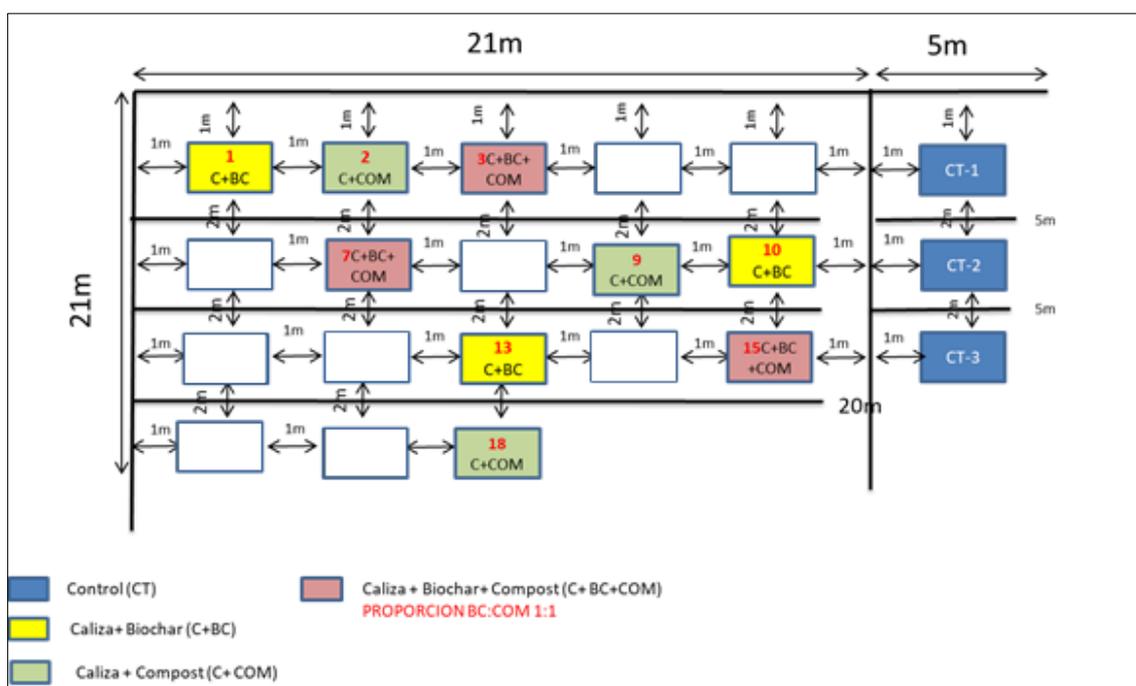


Figura 2. Distribución de las parcelas utilizadas para este proyecto.

Previo a la aplicación de las enmiendas se realizó una caracterización de cada una de ellas, para así evitar producir efectos no deseados:

Tabla 1. Caracterización de las enmiendas utilizadas.

Enmiendas	pH	CE (mS cm ⁻¹)	Cd (mg kg ⁻¹)	CO (%)	Cl (%)
Caliza	8,70	0,07	0,05	-	-
Biocarbón	11,14	1,92	0,07	71,44	-
Compost	9,48	12,34	0,35	17,70	1,38

El biocarbón utilizado se produjo con humus de lombrices como materia orgánica. Con las enmiendas orgánicas de biocarbón y compost se pretende obtener un contenido de carbono orgánico del 2%, que es aproximadamente el contenido en carbono orgánico de los suelos forestales de la zona (Bastida et al., 2005). En el tratamiento 4 y 7 (figura 2), el compost y el biocarbón se añadieron en una proporción 1:1 del contenido de carbono orgánico.

Las dosis de enmiendas aplicadas en cada una de las parcelas fue la siguiente:

En las parcelas 1, 10 y 13:

- Biocarbón: 145 kg
- Caliza: 1170 kg

En las parcelas 2, 9 y 18:

- Caliza: 1170 kg
- Compost: 353 kg

En las parcelas 3, 7 y 15:

- Biocarbón: 73 kg
- Caliza: 1170 kg
- Compost: 177 kg

Debido a que el suelo minero estaba muy compactado y con grandes desniveles primero se tuvieron que realizar trabajos de nivelación en el área que ocuparían las parcelas, de aproximadamente 546 m² (ilustración 1).



Ilustración 1. Terreno donde se ubicarán las parcelas después de los trabajos de nivelación..

Se utilizó un motocultor (ilustración 2) para descompactar el suelo y posibilitar su homogeneidad antes de la aplicación de las enmiendas. Las parcelas se araron a una profundidad de 40 cm para poder incorporar las enmiendas (profundidad radicular de las especies a introducir), lo que hace un volumen de residuos mineros a tratar de 3,6 m³ por parcela. También se utilizaron estacas y cinta reflectante para delimitar las parcelas de 3 x 3 m² (ilustración 3).



Ilustración 2. Proceso de homogenización del suelo utilizando un motocultor.



Ilustración 3. Parcelas delimitadas y homogenizadas antes de aplicar las enmiendas.

4.3. MUESTREOS

4.3.1. Primer muestreo

El primer muestreo (M0) se realizó en fecha 8 de febrero de 2019, sirviendo como control de todas las parcelas para medir los cambios que ocurran en estas a partir de las enmiendas aplicadas (ilustración 3). En cada una de las parcelas se tomó una muestra compuesta por 3 submuestras a una profundidad de 0-30 cm; estas fueron empacadas en bolsas debidamente etiquetadas. Para el cálculo de la densidad aparente se utilizó un cilindro hueco de volumen conocido.

Luego de finalizado el primer muestreo, en esta misma fecha, fueron aplicadas las enmiendas asignadas a cada parcela.

4.3.2. Segundo muestreo

Antes del segundo muestreo (M1), en fecha 27 de febrero de 2019, se aplicó un riego con 1.100 L de agua para facilitar que ocurran las reacciones químicas del suelo, tras la aplicación de las enmiendas, y asegurar que la neutralización del pH se efectuaba eficientemente antes de la plantación. Cinco días después, el 4 de marzo de 2019, se realizó el segundo muestreo procediendo del mismo modo que en el primer muestreo. Este mismo día se realizaron las labores de plantación (ilustración 4).



Ilustración 4. Plantación de especies seleccionadas, en fecha 4 marzo de 2019, día en que se realizó el segundo muestreo.

Se utilizó la planta *P. miliaceum* en plantón y en semilla como planta fitoestabilizadora, y *C. juncea* en plantón, como especie fijadora de nitrógeno. Estas se colocaron tal y como indica en la ilustración 5.



Ilustración 5. Esquema de cómo se distribuyeron las plantas en cada parcela.

Tras la plantación se realizó un riego de 2.100 L entre todas las parcelas. En esta etapa cuando se procedió a colocar las láminas galvanizadas para evitar la erosión hídrica y demás se colocó una malla conejera en todo el perímetro para evitar que los animales se alimenten de alguna de las plantas.

4.3.3. Tercer muestreo

Tras haber transcurrido 72 días de la plantación se realizó el tercer muestreo (M2) de suelo, en fecha 15 de mayo de 2019, en este se procedió de igual forma que en los dos muestreos anteriores. En esta fecha también se tomaron las muestras para calcular la densidad aparente y el contenido de humedad de las muestras de cada parcela y adicionalmente se tomó una muestra (R) del terreno circundante en el que no se hubiera efectuado el trabajo de arado.

4.3.4. Cuarto Muestreo

El cuarto muestreo (M3) se realizó el 2 de julio de 2019. Para esta fecha las plantas ya cumplían 120 días tras plantación, y se tomó una muestra de cada especie de planta y de su correspondiente suelo rizosférico en cada parcela.

4.4. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

Para la determinación de las propiedades tanto químicas como físicas de las muestras de suelos y previo a la realización de las analíticas de laboratorio, las muestras fueron sometidas a un proceso de secado en horno a 40°C y luego tamizadas utilizando un tamiz de 2 mm. El contenido de partículas de suelo que pasa por dicho tamiz fue el empleado para la realización de la mayoría de los análisis de laboratorio, cuyas metodologías se describen a continuación, con excepción de la determinación de carbono orgánico, nitrógeno total y metales totales, cuyos análisis se llevaron a cabo moliendo el suelo previamente tamizado.

En el caso de las plantas, la parte radicular y aérea fueron separadas, lavadas con agua del grifo y agua destilada, y secadas en horno a 40°C para luego proceder a su molienda y utilizar este contenido en la determinación de concentración de metales en plantas.

4.4.1. Densidad Aparente y contenido de humedad

Para calcular la densidad aparente se utilizó el método del cilindro, en el cual se tomó una muestra inalterada del suelo en un cilindro de volumen conocido. La densidad aparente se calculó mediante la relación de peso seco del suelo (tras secado en estufa a 105°C durante 24 h) y el volumen que ocupaba en el campo.

4.4.2. pH real

Para determinar el pH real se utilizaron 8 g de suelo tamizado (menor de 2 mm) en viales de 50 mL y se agregaron 205 mL de agua desionizada (relación suelo: agua 1:2,5) utilizando un pH-metro Crison GLP 21 correctamente calibrado.

4.4.3. Conductividad eléctrica

Para determinar la conductividad eléctrica (CE) se utilizaron 8 g de suelo tamizado (menor de 2 mm) en viales de 50 mL y se agregaron 40 mL de agua desionizada (relación suelo: agua 1:5) utilizando un conductímetro Crison GLP 31 correctamente calibrado. Los resultados se obtienen en mS cm^{-1} .

4.4.4. Carbono orgánico e inorgánico

Para determinar el contenido de carbono orgánico (CO) e inorgánico (CI) se utilizó un analizador elemental TOC-V CSH de Shimadzu.

4.4.5. Carbono recalcitrante

Se pesaron 20 g de suelo tamizado y se le añadieron 100 mL hexametáfosfato de sodio ($\text{Na}_6\text{P}_6\text{O}_{18}$) (relación suelo: sodio 1:5) utilizando el método descrito por Álvaro Fuentes et al. (2019). Luego se llevó a un analizador elemental TOC-V CSH de Shimadzu.

4.4.6. Concentración total de Cd

Para determinar la concentración total de Cd de los suelos, se pesaron 0,5 g de suelo molido, utilizando el molino de ágata y se agregaron 10 mL de HNO_3 . Para las plantas, se pesaron 0,5 g de muestra molida y se añadió 9 mL de HNO_3 , 0,5 mL de HCL y 0,5 mL de HF. Luego se introdujo en un microondas modelo Mars 6 de la marca CEM Instrument

para la digestión de la muestra, y la continuación se midió la concentración de Cd en un equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica modelo Agilent 7900.

4.4.7. Concentración Intercambiable de Cd

Para determinar la concentración intercambiable de Cd, se pesaron 4 g de suelo tamizado (menor de 2 mm) en tubos falcon de 50 mL y se agregaron 40 mL de CaCl₂ (0,01 M), se agitaron durante 2 h, luego se centrifugó y filtró para medir la concentración de Cd en un equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica modelo Agilent 7900.

4.4.8. Concentración Soluble de Cd

Para determinar la concentración soluble de Cd, se pesaron 8 g de suelo tamizado (menor de 2 mm) en tubos falcon de 50 mL y se agregaron 40 mL de agua desionizada (relación suelo: agua 1:5), se agitaron durante 6 h, luego se centrifugó y filtró para medir la concentración de Cd en un equipo de Espectrofotometría de Absorción Atómica modelo Agilent 7900.

4.4.9. Factor de bioacumulación (FB)

También conocido como índice de bioconcentración (BF), coeficiente de absorción biológica (BAC), coeficiente de transferencia (TC), factor de concentración (Cf) o coeficiente de bioacumulación (BAC); se utiliza para medir la capacidad de captación de un metal por una planta (raíz y parte aérea) con relación a su concentración en el suelo. Para las plantas, el FB se utiliza como una medida de la eficiencia de acumulación de metales en biomasa, donde valores > 1 indican que las especies son potencialmente hiperacumuladoras (Medina Marcos *et al.*, 2014).

El factor de bioacumulación se calculó de acuerdo al método propuesto por Olivares y Peña (2009), a través de la siguiente ecuación:

$$FB = \frac{[Metal]_{Aérea}}{[Metal]_{Suelo}}$$

Donde:

Metal_{Aérea} = Concentración de Cd en la parte aérea de la planta en mg kg⁻¹.

Metal_{Suelo} = Concentración total de Cd en el suelo rizosférico de la planta en mg kg⁻¹.

4.4.10. Factor de traslocación (FT)

Es el cociente entre la concentración del metal en los órganos aéreos y raíz (Olivares and Peña, 2009). Factores de translocación mayores a 1 sugieren gran capacidad para transportar metales desde las raíces a los vástagos, explicada en su mayor parte por eficientes sistemas de transporte de metales (Medina Marcos *et al.*, 2014). Las plantas acumuladoras se caracterizan por una relación concentración de metal parte aérea / concentración de metal raíz, mayor a 1. En cambio, las plantas no acumuladoras tienen una más alta concentración de metal en raíces que en hojas y tallos (Medina Marcos *et al.*, 2014).

Si obtenemos un valor del factor de traslocación mayor a 1 indica una eficiente translocación del metal a brotes, por lo que la planta puede usarse con fines de fitoextracción. Si, por el contrario, dicho valor es menor a 1, la translocación del metal es baja, por lo que éste es retenido principalmente en las raíces y puede usarse para fitoestabilización (Audet and Charest, 2007).

Este factor se calcula dividiendo la concentración de Cd en la fitomasa aérea (mg kg^{-1}) entre la concentración de Cd de la raíz de la planta, de acuerdo a Olivares and Peña (2009) utilizando la siguiente relación.

$$FT = \frac{[Metal]_{Aérea}}{[Metal]_{Raíz}}$$

Donde:

$Metal_{Aérea}$ = Concentración de Cd en la parte aérea de la planta en mg kg^{-1} .

$Metal_{Suelo}$ = Concentración de Cd en la raíz de la planta en mg kg^{-1} .

4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La normalidad de las muestras se comprobó mediante el test de Kolmogorof-Smirnov. Para evaluar el efecto de la enmienda en los parámetros edáficos, se llevó a cabo un ANOVA de un factor independientemente para cada fecha de muestreo. Para evaluar el efecto de la evolución temporal en los parámetros edáficos, se realizó un ANOVA de medidas repetidas de un factor, independientemente para cada tipo de enmienda. La separación de las medias se efectuó según el test post-hoc de Turkey a un nivel de significación $P < 0,05$. Para evaluar el efecto de las enmiendas y las diferencias entre plantas y partes de cada planta, se llevó a cabo un ANOVA de medidas repetidas de tres factores, con la parte de la planta como factor intra-sujeto (parte aérea y raíz) y tipo de planta (*P. miliaceum* y *C. juncea*) y tipo de enmienda (caliza, compost, biocarbón y sus combinaciones) como factores inter-sujetos. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa Minitab18 para Windows.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. DENSIDAD APARENTE Y CONTENIDO DE HUMEDAD

La densidad aparente es un valor que representa el peso del suelo seco en un determinado volumen, incluyendo los espacios entre los poros. Conociendo el valor de la densidad aparente podemos estimar que tan compactado está el suelo, si está bien aireado o si posee buena capacidad de drenaje.

En la figura 3 podemos ver que los valores de densidad aparente en nuestros suelos antes y después de arar y aplicar las enmiendas tiene valores por debajo de $1,5 \text{ g cm}^{-3}$ y no existen diferencias significativas entre las diferentes parcelas ($P > 0,05$). Estos valores por debajo a $1,5 \text{ g cm}^{-3}$ son los adecuados para el correcto desarrollo de las raíces (Thompson and Troeh, 1988).

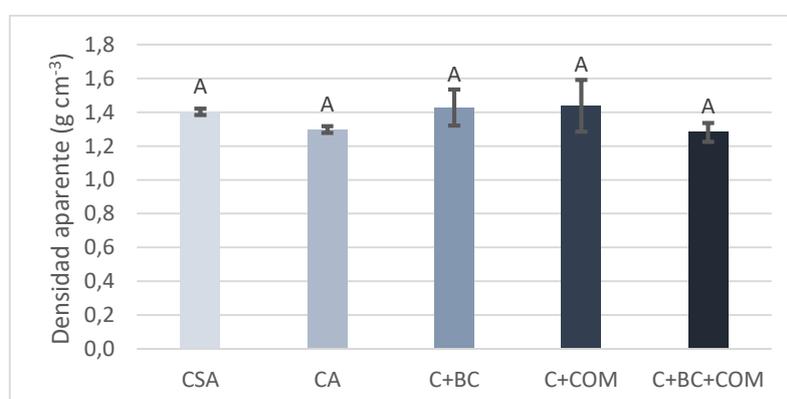


Figura 3. Densidad aparente en muestras de suelo analizadas. Las barras de error representan el error típico; letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. R: suelo inalterado; CA: parcelas control arado; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas.

En cuanto al contenido de humedad (figura 4), podemos ver que los suelos con enmiendas poseen un mayor contenido de humedad que los suelos sin enmiendas, pero, a diferencia de los resultados obtenidos por Glaser *et al.* (2002), no se observaron aumentos en el contenido de humedad de más de un 8% en ninguno de los tratamientos respecto a las condiciones iniciales antes y después de arar. Esto demuestra que la adición de materia orgánica al suelo incrementa su capacidad de retener agua debido a su adsorción por grupos funcionales activos (Glaser *et al.*, 2002).

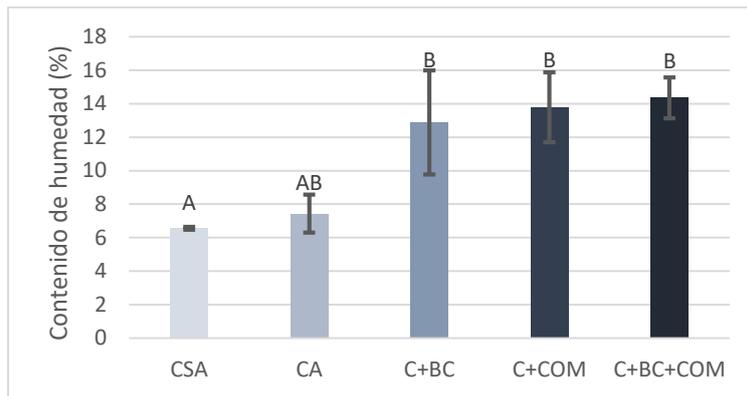


Figura 4. Porcentaje de humedad en muestras de suelo analizadas. Las barras de error representan el error típico; letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey. CSA: suelo inalterado; CA: parcelas control arado; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas.

5.2. pH

Los niveles de pH en las parcelas de control tienen valores en torno a los 4,5 (figura 5), lo cual los hace suelos ácidos. Lo mismo sucede en el primer muestreo (M0) de las demás parcelas, las cuales tienen valores de pH en torno a 3,5, ya que en este muestreo aún no se habían aplicado las enmiendas.

Después de haber aplicado las enmiendas, conseguimos aumentar significativamente los valores de pH por encima de 7, haciendo que estos suelos enmendados sean considerados suelos básicos ($\text{pH} > 7$). Este aumento del pH posiblemente es debido al carbonato cálcico (CaCO_3) presente en la caliza utilizada y al biocarbón el cual ha demostrado tener la capacidad de aumentar el pH en suelos ácidos (Van Zwieten *et al.*, 2010). Además, debemos destacar que el compost utilizado posee un pH básico al igual que el biocarbón y la caliza (tabla 1).

No se observaron diferencias significativas entre los diferentes muestreos de un mismo tratamiento ni entre los diferentes tratamientos ($P > 0,05$). De igual manera no se observó ninguna variación significativa debido a la presencia de plantas en ninguna de las enmiendas, a diferencia de los resultados obtenidos por Moreno-Barriga *et al.* (2017).

El pH puede condicionar la existencia de la mayoría de las especies vegetales en el suelo, ya que este determina la posibilidad de asimilación de nutrientes, así como la capacidad de intercambio catiónico. En los suelos de las parcelas en los que no se aplicaron las enmiendas es improbable que se desarrolle vegetación, debido a que en valores de pH inferiores a 5 se presentan carencias en la asimilación de Nitrógeno (N), Potasio (K), Calcio (Ca), Magnesio (Mg) y Boro (B). (Ballester-Olmos, 1993). Por tanto, son deseables valores en torno a los 6 y 8 para favorecer el crecimiento de la vegetación.

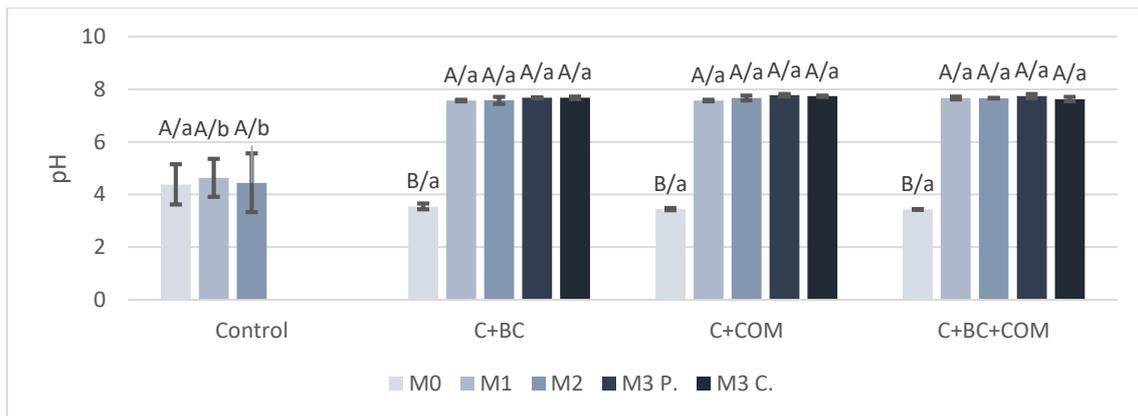


Figura 5. pH de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey ($P < 0,05$). Las barras con letra mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre muestreos para un mismo tipo de enmienda. Las barras con letras minúscula distinta indican diferencias significativas entre diferentes enmiendas en un mismo muestreo. Control: parcelas control; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas; P: *Piptatherum miliaceum*; C: *Coronilla juncea*.

5.3. CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA

La conductividad eléctrica (CE) es la capacidad que tiene una solución para conducir electricidad, y esta es proporcional al contenido de sales disueltas en la solución (Acosta Avilés, 2018). En la figura 6 vemos que las parcelas Control tienen valores de CE en torno a 3,5 mS cm⁻¹, sin cambios significativos con el tiempo. Por el contrario, las parcelas C+BC sufrieron una disminución significativa en la CE ($P < 0,05$), estando la mayor disminución en el segundo muestreo (M1), debido probablemente al lavado realizado antes de la realización del mismo. Por otra parte, las parcelas que contienen C+COMP no sufrieron ningún cambio significativo ($P > 0,05$). Las parcelas con C+BC+COM tampoco sufrieron variación significativa de la CE debido a la aplicación de las enmiendas.

En cuanto a las diferencias entre enmiendas, cabe destacar el descenso significativo observado tras la aplicación de C+BC, no observado cuando se añade compost. Este debe ser debido, probablemente, a las sales presentes en el compost (tabla 1), que son solubilizadas en el suelo.

Con los niveles de CE presentes en todas las parcelas, con valores entre 2 y 4 mS cm⁻¹, los mismos se califican como suelo muy ligeramente salino y podría restringir el rendimiento de algunas especies vegetales que sean sensibles a este cambio (Estados Unidos. Department of Agriculture. Soil Survey Division Staff, 2000). Por tanto, las especies utilizadas para revegetar este suelo deben ser tolerantes a la salinidad.

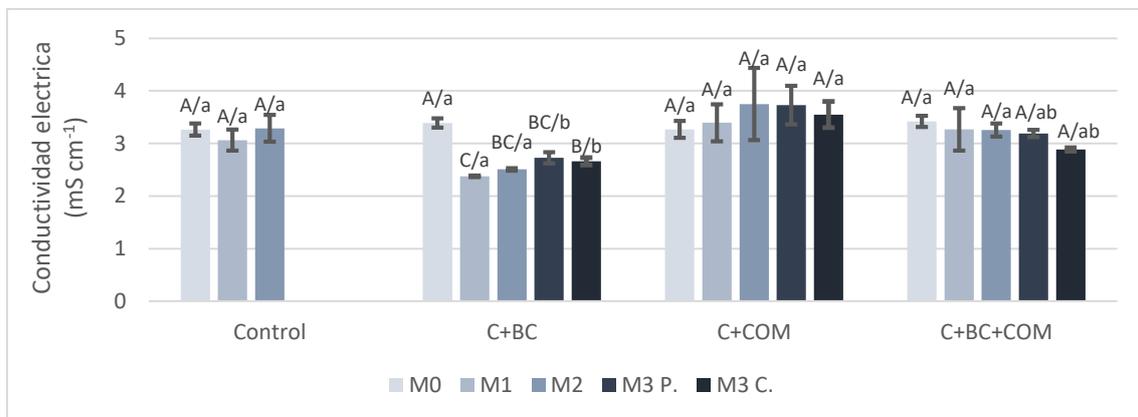


Figura 6. Conductividad eléctrica de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey ($P < 0,05$). Las barras con letra mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre muestreos para un mismo tipo de enmienda. Las barras con letras minúscula distinta indican diferencias significativas entre diferentes enmiendas en un mismo muestreo. Control: parcelas control; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas; P: *Piptatherum miliaceum*; C: *Coronilla juncea*.

5.4. CARBONO ORGÁNICO, INORGÁNICO Y RECALCITRANTE

En la figura 7 podemos ver el contenido de carbono orgánico (CO) en las muestras de suelo. En las parcelas control podemos ver que el porcentaje de CO en estos suelos está por debajo de 0,90% y no existen diferencias significativas entre los 3 muestreos realizados a los controles. En cuanto a las demás parcelas, podemos observar un incremento significativo tras la aplicación de las enmiendas ($P < 0,05$). El desarrollo de la vegetación condujo a un descenso, aunque no significativo, del valor de CO en la parcela C+COM, mientras que este mismo efecto se observó solo en el suelo de *C. juncea* en la parcela C+BC+COM. Estos resultados ponen de manifiesto la efectividad tanto del biocarbón como del compost para aportar carbono orgánico a los suelos, sin diferencias significativas entre compost y biocarbón, indicando que, aunque el biocarbón es más recalcitrante que el compost, este último también aporta carbono orgánico estabilizado. El descenso con el desarrollo de la vegetación, aunque no significativo, podría estar asociado a una población microbiana activa en la rizosfera que está mineralizando la materia orgánica para obtener nutrientes disponibles (Martínez et al., 2008).

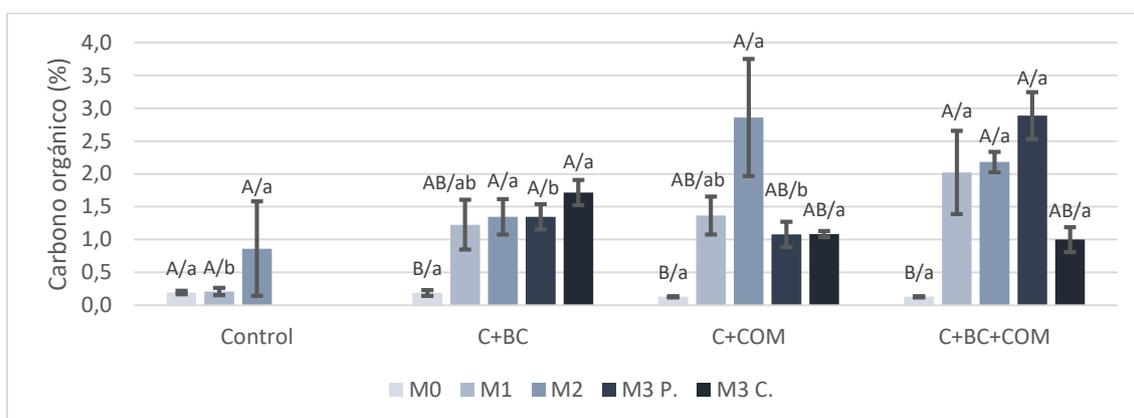


Figura 7. Carbono orgánico de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey ($P < 0,05$). Las barras con letra mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre muestreos para un mismo tipo de enmienda. Las barras con letras minúscula distinta indican diferencias significativas entre diferentes enmiendas en un mismo muestreo. Control: parcelas control; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas; P: *Piptatherum miliaceum*; C: *Coronilla juncea*.

En la figura 8 vemos el contenido de carbono inorgánico (CI). En las parcelas control no hay CI, lo mismo sucede con el primer muestreo de las demás parcelas antes de aplicar las enmiendas. Una vez aplicadas las enmiendas, se puede observar un aumento significativo en el CI de las parcelas. Estos resultados confirman la eficacia del carbonato cálcico para neutralizar la acidez de suelos ácidos de forma estable, tal y como se ha observado previamente en otros estudios (Sánchez Villaluenga, 2015).

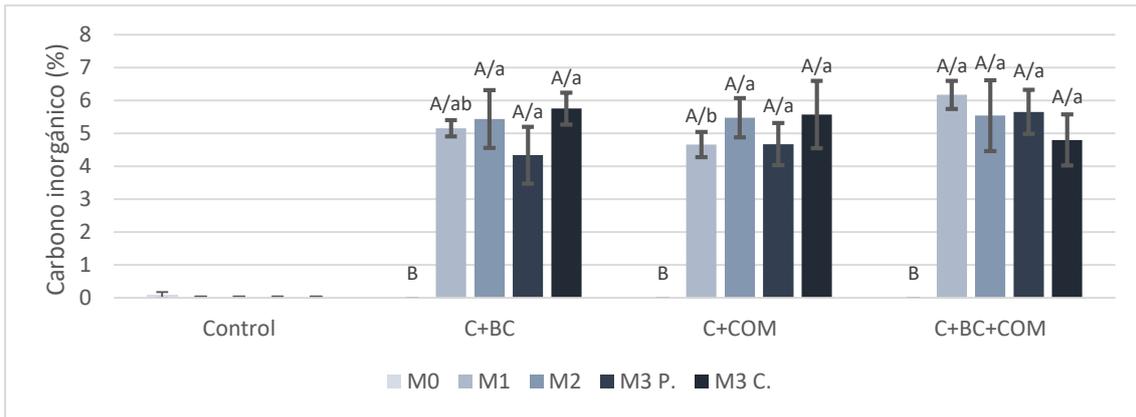


Figura 8. Carbono inorgánico de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey ($P < 0,05$). Las barras con letra mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre muestreos para un mismo tipo de enmienda. Las barras con letras minúscula distinta indican diferencias significativas entre diferentes enmiendas en un mismo muestreo. Control: parcelas control; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas; P: *Piptatherum miliaceum*; C: *Coronilla juncea*.

El carbono recalcitrante es la fracción del carbono orgánico más estable y en la que hay mayor participación de sustancias húmicas de lenta descomposición, como resultado de su alto peso molecular, de sus estructuras complejas, irregulares y aromáticas y de su interacción con los constituyentes minerales del suelo (Orjuela, 2018). En la figura 9 podemos observar un ligero aumento del carbono recalcitrante en todas las parcelas con enmiendas en comparación con el control, aunque estas diferencias no son significativas ($P > 0,05$). El mayor aumento se produce en el suelo rizosférico de *P. miliaceum* con la combinación C+BC+COM. La ausencia de diferencias significativas se debe a la alta variabilidad de las muestras.

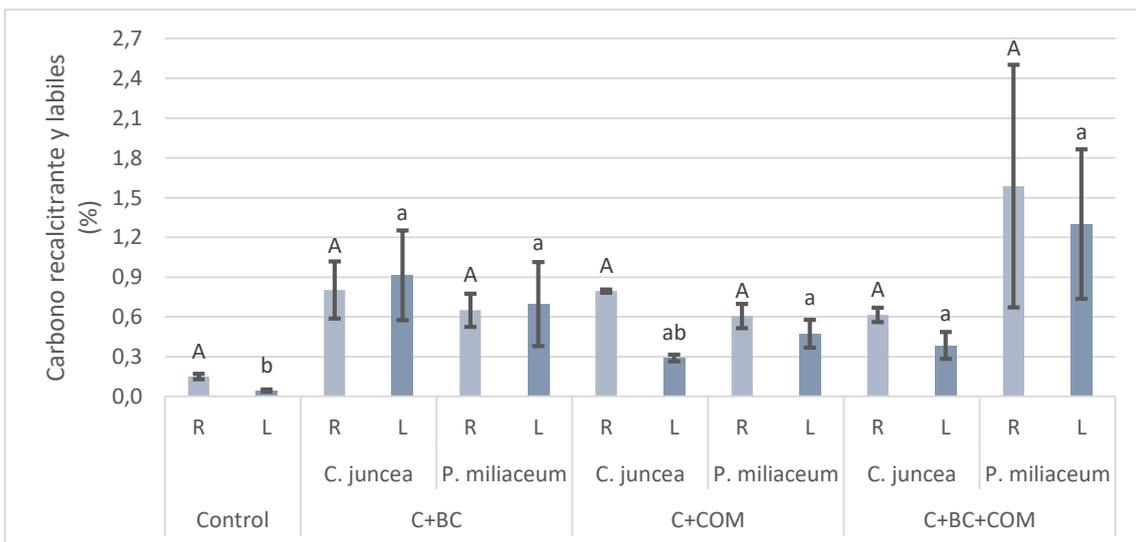


Figura 9. Carbono recalcitrante y lábil de los suelos rizosféricos de las plantas. Las barras de error representan el error típico. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey ($P < 0,05$). Las barras con letra mayúsculas distintas indican diferencias significativas en el carbono recalcitrante de las diferentes enmiendas. Las barras con letras minúscula distinta indican diferencias significativas carbono lábil de las diferentes enmiendas. Control: parcelas control; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas; R: carbono recalcitrante; L: carbono lábil.

En cuanto al carbono lábil, este es el que se degrada más fácilmente por la acción metabólica de los microorganismos, y por tanto será la fracción de carbono orgánico que menos tiempo permanezca en el suelo. Podemos observar en la figura 9 que la adición de enmiendas y desarrollo de la vegetación provocó un incremento significativo en el carbono lábil en relación al control, excepto en el suelo rizosférico de *C. juncea* con C+COM. Estos resultados indican que, a corto plazo, tanto el biocarbón como el compost proporcionan altas cantidades de carbono fundamentalmente fácilmente degradable, que resulta necesario para activar las poblaciones microbianas y favorecer la agregación de las partículas del suelo (Moreno-Barriga et al., 2017).

5.5. CONCENTRACIÓN TOTAL DE Cd

Las concentraciones de Cd en las parcelas de control presentaron valores del orden de los 20 mg kg⁻¹ (figura 10), por lo que este suelo sobrepasa 40 veces el nivel genérico de referencia aplicables en la zona 3a y al grupo mineralógico 3, que es la zona donde se ubica este depósito (Martínez-Sánchez and Pérez-Sirvent, 2007). Por otra parte, la legislación española cita un nivel máximo en suelos agrícolas de 1 mg kg⁻¹ para un suelo de pH < 7 (BOE, 1990), por lo que estas parcelas también sobrepasan estos valores.

Para suelos con pH ≥ 7, que es el caso de los suelos enmendados, el nivel máximo para suelos agrícolas es de 3 mg kg⁻¹ por lo que las parcelas enmendadas también sobrepasan estos niveles máximos establecidos por la legislación española (BOE, 1990). De igual forma los suelos enmendados superan entre 3 – 15 veces el valor genérico de referencia aplicables en esta zona (Martínez-Sánchez and Pérez-Sirvent, 2007).

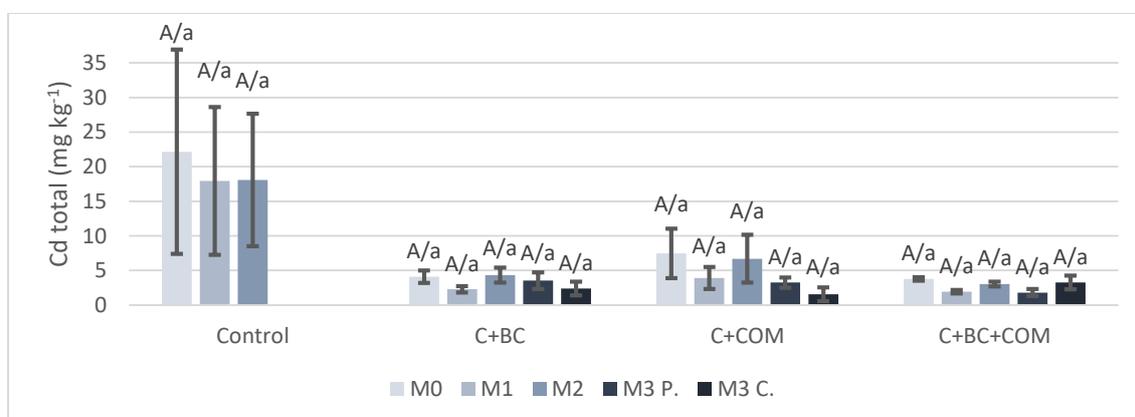


Figura 10. Concentración media de Cadmio (Cd) totales de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey ($P < 0,05$). Las barras con letra mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre muestreos para un mismo tipo de enmienda. Las barras con letras minúscula distinta indican diferencias significativas entre diferentes enmiendas en un mismo muestreo. Control: parcelas control; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas; P: *Piptatherum miliaceum*; C: *Coronilla juncea*.

Tras la aplicación de las enmiendas se observa que las concentraciones promedio de cadmio total no sufrieron cambios, es decir, no existen diferencias significativas tras aplicar las enmiendas ni entre diferentes combinaciones de enmiendas ($P > 0,05$). Este resultado era esperable, ya que el propósito de la aplicación de enmiendas y promoción del desarrollo de la vegetación no es eliminar el contenido total de metales en el suelo,

sino inmovilizar y retener los metales del suelo, para que estén menos disponibles y se minimice la transferencia por erosión y lixiviación (Kabas *et al.*, 2012).

5.6. CONCENTRACIÓN INTERCAMBIABLE DE Cd

La fracción de Cd intercambiable en las parcelas después de aplicar las enmiendas se redujo casi por completo (figura 11). Las parcelas control presentan valores entre 5 - 13 mg kg⁻¹ de cadmio intercambiable, sin diferencias significativas entre los muestreos realizados a estas parcelas ($P > 0,05$). Sin embargo, en el primer muestreo (M0), las parcelas con enmiendas tienen valores entre 2 - 4 mg kg⁻¹ de Cd intercambiable, valor que se reduce significativamente una vez aplicadas las enmiendas ($P < 0,05$). Este descenso significativo de la fracción intercambiable de Cd se debe fundamentalmente al ascenso en el pH hasta la neutralidad con la aplicación del residuo de caliza fundamentalmente, y del Biocarbón (Beesley *et al.*, 2010). La movilidad del Cd viene determinada por las condiciones del pH, de manera que en ambientes ácidos es muy móvil, pero conforme asciende el pH se forman oxihidroxidos y fosfatos de Cd que precipitan y lo inmovilizan, reduciendo su disponibilidad y por tanto su toxicidad (Sánchez Villaluenga, 2015).

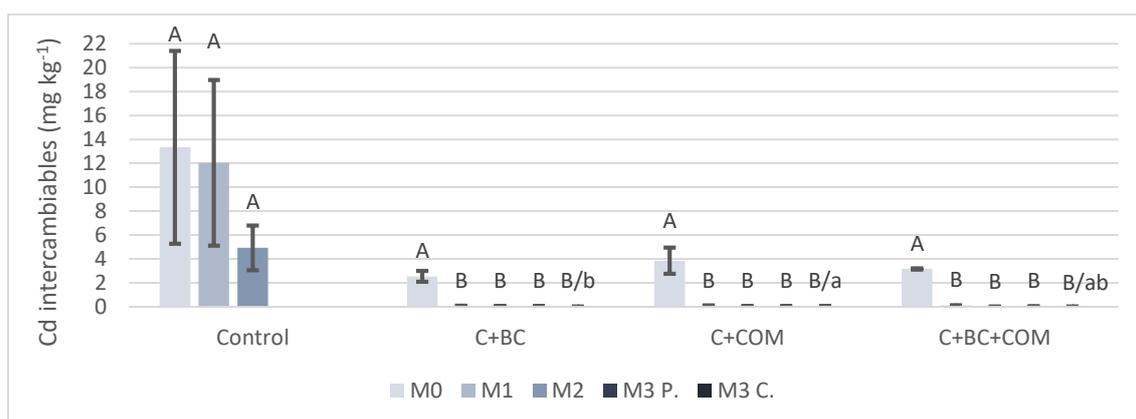


Figura 11. Concentración media de Cadmio (Cd) intercambiables de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey ($P < 0,05$). Las barras con letra mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre muestreos para un mismo tipo de enmienda. Las barras con letras minúscula distinta indican diferencias significativas entre diferentes enmiendas en un mismo muestreo. Control: parcelas control; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas; P: *Piptatherum miliaceum*; C: *Coronilla juncea*.

5.7. CONCENTRACIÓN SOLUBLE DE Cd

En la figura 12 podemos ver el contenido de Cd soluble en todas las parcelas. Como se puede apreciar, la tendencia de la fracción soluble es muy similar al observado en la fracción biodisponible. De hecho, comparando los valores de ambas fracciones, se observa que la mayor parte de la fracción biodisponible del Cd está en fase soluble, y por tanto no en el complejo de cambio del suelo. En las parcelas control se obtuvieron valores que van desde los 10 mg kg⁻¹ en el primer muestreo, hasta 3,27 mg kg⁻¹ en el tercer muestreo, sin diferencias significativas entre sí ($P > 0,05$).

En cuanto a las parcelas con enmiendas, el contenido de Cd soluble se redujo significativamente de valores de 2 mg kg⁻¹ en el primer muestreo, hasta prácticamente cero en los muestreos siguientes ($P < 0,05$). En cuanto a la diferencia entre enmiendas, no se encontraron diferencias significativas entre un tratamiento u otro ($P > 0,05$). Este descenso en la fracción soluble del Cd se debe también a incrementos en el pH de los suelos con la adición de las enmiendas, tal y como se ha explicado en la sección anterior.

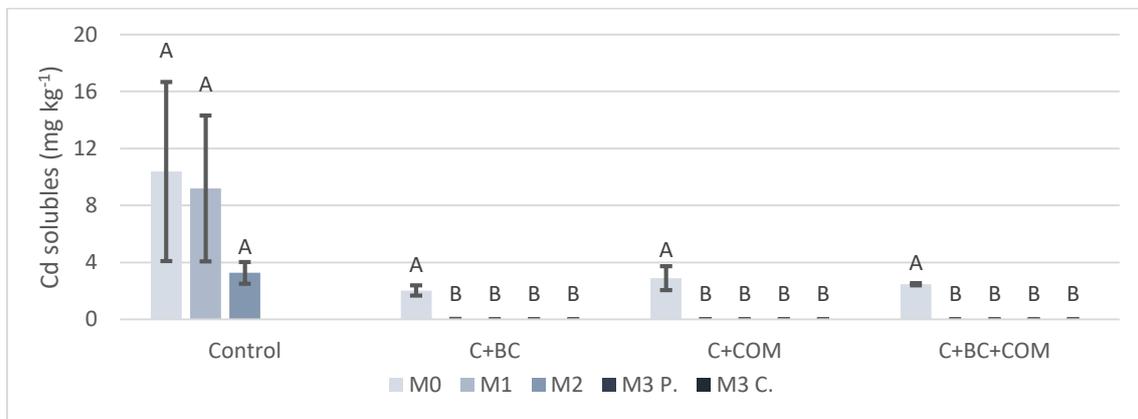


Figura 12. Concentración media de Cadmio (Cd) soluble de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. Letras diferentes indican diferencias significativas de acuerdo con el test de Turkey ($P < 0,05$). Las barras con letra mayúsculas distintas indican diferencias significativas entre muestreos para un mismo tipo de enmienda. Las barras con letras minúscula distinta indican diferencias significativas entre diferentes enmiendas en un mismo muestreo. Control: parcelas control; C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas; P: *Piptatherum miliaceum*; C: *Coronilla juncea*.

5.8. CONCENTRACIÓN DE Cd EN LOS TEJIDOS DE LAS PLANTAS

Los valores de Cd totales encontrados en las dos plantas introducidas en las parcelas se encuentran por debajo de los 5 mg kg⁻¹ (figura 13), el cual es el valor límite de toxicidad en plantas (Parra *et al.*, 2014), a excepción de las raíces de *P. miliaceum* con la combinación de enmiendas de C+COM, la cual sí sobrepasa en una parcela los 5 mg kg⁻¹ de cadmio. No obstante, al ser esta concentración en la raíz, no hay riesgo de transferencia del metal en la cadena trófica, al no servir de alimentos para ninguna especie herbívora. Como se puede observar, no existe efecto significativo del tipo de planta, tipo de enmienda ni parte de la planta en la acumulación de Cd. Además, las interacciones entre factores no fueron significativas en ningún caso. Estos resultados indican que ambas especies se comportan de manera similar frente a la acumulación de Cd en sus tejidos, con el mismo efecto de las diferentes enmiendas sobre ellas. No se aprecia tampoco ninguna acumulación preferente en ningún tejido. Este hecho no era esperado, ya que en estudios previos se ha observado que *P. miliaceum* acumula más concentración de metales en la raíz que en los tallos. Esto podría deberse al poco tiempo de crecimiento de estas especies, por lo que se debería realizar un seguimiento más adelante para ver si se mantiene este comportamiento (Moreno-Barriga *et al.*, 2017).

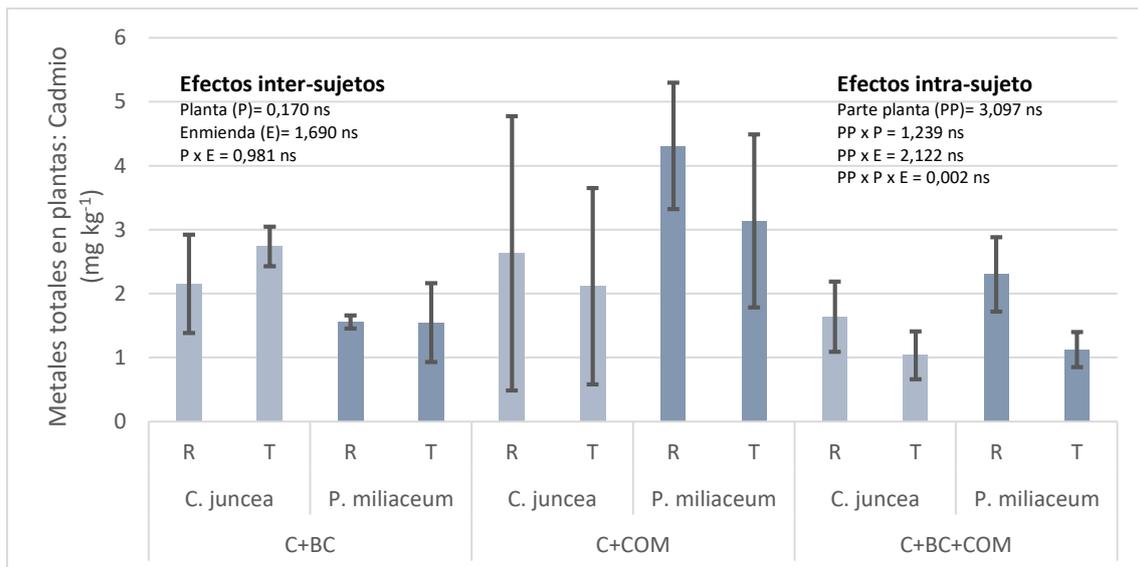


Figura 13. Concentraciones medias de cadmio (Cd) totales en las plantas de las parcelas con las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas; R: raíz; T: tallo. Se muestran los valores del estadístico F del ANOVA de medidas repetidas; ns: no significativo.

5.9. FACTOR DE BIOACUMULACIÓN

La movilidad del cadmio del suelo contaminado hacia las plantas se evaluó por medio del factor de bioacumulación (figura 14). *C. juncea* es la especie con mayor factor de bioacumulación en las enmiendas de C+BC y C+COM, con valores de 1,37 y 1,33 respectivamente. Con respecto a *P. miliaceum*, la media del factor de bioacumulación fue siempre menor de 1 en todos los casos. Estos resultados indican que ambas especies no son grandes acumuladoras de Cd en sus partes aéreas, siendo *P. miliaceum* más efectiva para la fitoestabilización, tal y como se ha observado en trabajos previos (Sánchez Villalunga, 2015). Por otro lado, la combinación de biocarbón con compost redujo la transferencia de Cd a la parte aérea en comparación con la aplicación independiente de ambas enmiendas. Este efecto sinérgico debería monitorizarse para observar si se mantiene esta tendencia, proponiendo su aplicación conjunta para estrategias de fitoestabilización si se confirmara.

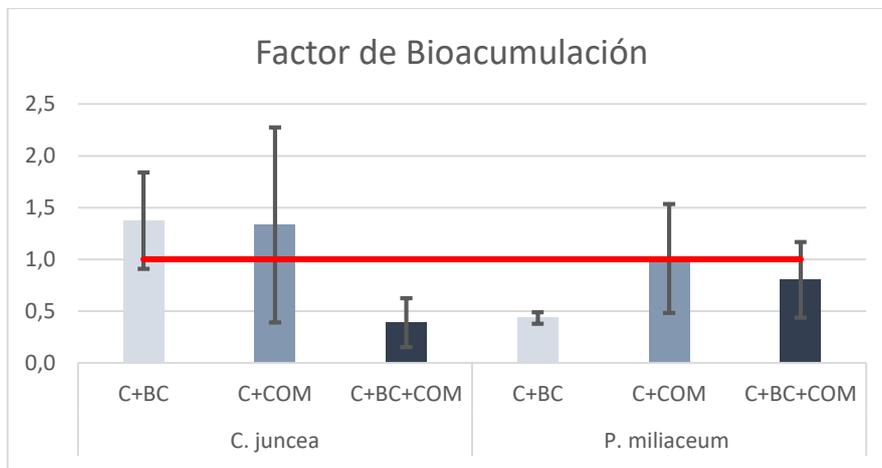


Figura 14. Factor de bioacumulación de las plantas en las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas.

5.10. FACTOR DE TRASLOCACIÓN

Para evaluar la transferencia de Cd desde las raíces hasta la parte aérea de las plantas se utilizó el factor de traslocación (FT) (figura 15). Como se puede apreciar, *C. juncea* fue la única especie que presentó un FT > 1 cuando se aplicó C+BC, lo cual sugiere que esta planta, en combinación con esta enmienda, posee gran capacidad para transportar metales desde las raíces hasta el tallo, por tanto, se podría considerar como hiperacumuladora (Medina Marcos *et al.*, 2014). Por otro lado, *P. miliaceum* no mostró traslocación de Cd con ninguna enmienda, confirmando su alta capacidad fitoestabilizadora.

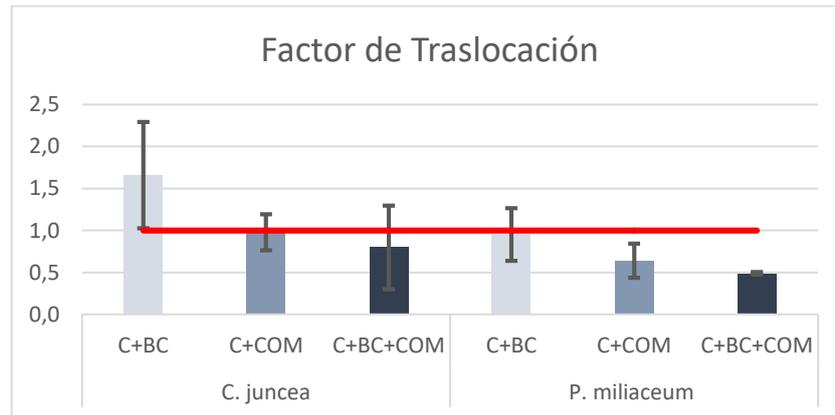


Figura 15. Factor de traslocación de las plantas en las diferentes combinaciones de enmiendas. Las barras de error representan el error típico. C+BC: parcelas con caliza y biocarbón como enmiendas; C+COM: parcelas con caliza y compost como enmiendas; C+BC+COM: parcelas con caliza, biocarbón y compost como enmiendas.

6. CONCLUSIONES

La adición de biocarbón conjuntamente con carbonato cálcico favoreció la inmovilización del Cd del suelo, debido fundamentalmente a incrementos significativos en el pH como consecuencia del aumento de carbonato cálcico en el suelo.

En cuanto al carbono orgánico, no se encontraron indicios de que el biocarbón, en comparación con el compost, aumentara significativamente los niveles de carbono recalcitrante en los suelos analizados. Ambas enmiendas han contribuido por igual a incrementar el carbono orgánico total, el carbono recalcitrante y el carbono lábil, por lo que el uso de ambos es positivo.

En cuanto a la transferencia de Cd del suelo hasta la parte aérea de las plantas, esta se vio reducida en las enmiendas que poseían C+BC+COM como tratamiento. Por tanto, la incorporación combinada de biochar con compost junto con carbonato cálcico sería una buena estrategia para favorecer la eficiencia de la fitoestabilización.

La adición de biocarbón también ayudó a disminuir la salinidad de las parcelas, a diferencia de las otras enmiendas, las cuales mantuvieron valores similares a los controles.

Respecto a las diferencias entre las especies se observó mayor acumulación de Cd en los tejidos de *C. juncea* en las parcelas C+BC, pero en las parcelas C+COM y C+BC+COM fue *P. miliaceum* la especie que mayor acumulación tuvo. También observamos que *P. miliaceum* es más efectiva para fitoestabilización ya que en ningún caso presentó un FT mayor de 1.

Con relación a la eficiencia estabilizadora de Cd en el suelo, la especie *P. miliaceum* mejoró sus capacidades fitoestabilizadoras en combinación con las enmiendas C+BC+COM disminuyendo la translocación de Cd desde sus raíces hasta la parte aérea.

Por tanto, para garantizar el éxito de rehabilitación de depósitos mineros ácidos en zonas semiáridas Mediterráneas, se propone el uso de *P. miliaceum* como gramínea con alta capacidad de retención de suelo y *C. juncea* como leguminosa capaz de fijar nitrógeno atmosférico como especies fitoestabilizadoras del Cd, ayudado con la adición de carbonato cálcico, biochar y compost, que en combinación reducen la absorción de este metal por parte de la planta.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ACOSTA AVILÉS, J. A. C. G., D.M.; FAZ CANO, A.; GABARRÓN SÁNCHEZ, M.; GÓMEZ GARRIDO, M.; MARTÍNEZ MARTÍNEZ, S.; MORENO CORNEJO, J.; MUÑOZ GARCÍA, M.A.; ROSALES ARANDA, R.M.; SORIANO DISLA, J.M.; TERRERO TURBI, M.A.; ZORNOZA BELMONTE, R. 2018. *Métodos de Análisis de Suelos*.
- AHMAD, M., RAJAPAKSHA, A. U., LIM, J. E., ZHANG, M., BOLAN, N., MOHAN, D., VITHANAGE, M., LEE, S. S. & OK, Y. S. 2014. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: a review. *Chemosphere*, 99, 19-33.
- ÁLVARO FUENTES, J., LÓCZY, D., THIELE-BRUHN, S. & ZORNOZA BELMONTE, R. 2019. Handbook of plant and soil analysis for agricultural systems.
- AUDET, P. & CHAREST, C. 2007. Heavy metal phytoremediation from a meta-analytical perspective. *Environmental Pollution*, 147, 231-237.
- BALLESTER-OLMOS, J. F. 1993. *Substratos para el cultivo de plantas ornamentales*, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Secretaría General de
- BASTIDA, J. H., TAPIA, M. F. & ALARCÓN, M. 2005. Valores de fondo y valores genéricos de referencia para Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb y Zn en suelos del Campo de Cartagena, Murcia (SE España). *Edafología*, 12, 105-114.
- BEESELEY, L., MORENO-JIMÉNEZ, E. & GOMEZ-EYLES, J. L. 2010. Effects of biochar and greenwaste compost amendments on mobility, bioavailability and toxicity of inorganic and organic contaminants in a multi-element polluted soil. *Environmental pollution*, 158, 2282-2287.
- BOE 1990. Real Decreto 1310/1990 29 de Octubre de 1990, que regula la utilización de los lodos de depuración. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- CHAN, K., VAN ZWIETEN, L., MESZAROS, I., DOWNIE, A. & JOSEPH, S. 2008. Using poultry litter biochars as soil amendments. *Soil Research*, 46, 437-444.
- ESTADOS UNIDOS. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. SOIL SURVEY DIVISION STAFF 2000. *Soil survey manual*, Jodhpur, India, Scientific Publishers.
- GARCÍA GARCÍA, C. 2009. Impacto y riesgo ambiental de los residuos minero-metalúrgicos de la Sierra de Cartagena-La Unión (Murcia-España).
- GLASER, B., LEHMANN, J. & ZECH, W. 2002. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal—a review. *Biology and fertility of soils*, 35, 219-230.
- JOSEPH, S. & LEHMANN, J. 2009. *Biochar for environmental management: science and technology*, London, GB: Earthscan.
- KABAS, S., FAZ, A., ACOSTA, J., ZORNOZA, R., MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, S., CARMONA, D. & BECH, J. 2012. Effect 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.
- LEHMANN, J., SKJEMSTAD, J., SOHI, S., CARTER, J., BARSON, M., FALLOON, P., COLEMAN, K., WOODBURY, P. & KRULL, E. 2008. Australian climate-carbon cycle feedback reduced by soil black carbon. *Nature Geoscience*, 1, 832.
- MARÍN, J. A. A. & HUERTAS, B. S. 2007. Los orígenes de la arqueominería en la Región de Murcia (I): los hallazgos en la Sierra Minera de Cartagena-La Unión. *Mastia: Revista del Museo Arqueológico Municipal de Cartagena*, 123-142.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, S., MURCIA, F., ZORNOZA, R., FAZ, Á., ACOSTA, J., SÁNCHEZ-MEDRANO, R. & GÓMEZ, M. 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, 2014.

- MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, M. & PÉREZ-SIRVENT, C. 2007. Niveles de fondo y niveles genéricos de referencia de metales pesados en suelos de la Región de Murcia. *Universidad de Murcia. Región de Murcia, Consejería de Desarrollo Sostenible y Ordenación del Territorio. Murcia, Spain.*
- MARTÍNEZ, E., FUENTES, J. P. & ACEVEDO, E. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 8, 68-96.
- MEDINA MARCOS, K. D., CHÁVEZ, M. & NAYCLIN, Y. 2014. Determinación del factor de bioconcentración y traslocación de metales pesados en el *Juncus arcticus* Willd. y *Cortaderia rudiusscula* Stapf, de áreas contaminadas con el pasivo ambiental minero Alianza-Ancash 2013.
- MORENO-BARRIGA, F., FAZ, Á., ACOSTA, J. A., SORIANO-DISLA, M., MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, S. & ZORNOZA, R. 2017. Use of *Piptatherum miliaceum* for the phytomanagement of biochar amended Technosols derived from pyritic tailings to enhance soil aggregation and reduce metal (loid) mobility. *Geoderma*, 307, 159-171.
- MORENO, C. M., GONZÁLEZ, A. & BLANCO, M. 2004. Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación. *Rev Iberoam Micol*, 21, 103-120.
- OLIVARES, E. & PEÑA, E. 2009. Bioconcentración de elementos minerales en *Amaranthus dubius* (bledo, pira), creciendo silvestre en cultivos del estado Miranda, Venezuela, y utilizado en alimentación. *Interciencia*, 34, 604-611.
- ORJUELA, H. B. 2018. El carbono orgánico del suelo y su papel frente al cambio climático. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 35, 82-96.
- PARRA, A., ZORNOZA, R., CONESA, E., GÓMEZ-LÓPEZ, M. & FAZ, A. 2014. Seedling emergence, growth and trace elements tolerance and accumulation by Lamiaceae species in a mine soil. *Chemosphere*, 113, 132-140.
- ROMERO, A., GONZÁLEZ, I. AND GALÁN, E. 2006. Estimation of potential pollution of waste mining dumps at Peña del Hierro (Pyrite Belt, SW Spain) as a base for future mitigation actions.
- SÁNCHEZ VILLALUENGA, C. 2015. 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.
- SINGH, B. P., COWIE, A. L. & SMERNIK, R. J. 2012. Biochar carbon stability in a clayey soil as a function of feedstock and pyrolysis temperature. *Environmental science & technology*, 46, 11770-11778.
- THOMPSON, L. M. & TROEH, F. R. 1988. *Los suelos y su fertilidad*, Reverté.
- VAN ZWIETEN, L., KIMBER, S., MORRIS, S., CHAN, K., DOWNIE, A., RUST, J., JOSEPH, S. & COWIE, A. 2010. Effects of biochar from slow pyrolysis of papermill waste on agronomic performance and soil fertility. *Plant and soil*, 327, 235-246.
- VV.AA. 1998. Parque minero y ambiental Cabezo Rajao. Available: http://www.murcianatural.carm.es/c/document_library/get_file?uuid=5da632fa-4414-40c9-9784-df0335b1e498&groupId=14.
- WOOLF, D., AMONETTE, J. E., STREET-PERROTT, F. A., LEHMANN, J. & JOSEPH, S. 2010. Sustainable biochar to mitigate global climate change. *Nature communications*, 1, 56.
- ZHANG, X., WANG, H., HE, L., LU, K., SARMAH, A., LI, J., BOLAN, N. S., PEI, J. & HUANG, H. 2013. Using biochar for remediation of soils contaminated with heavy metals and organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 8472-8483.
- ZORNOZA, R., ACOSTA, J., MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, S., FAZ, A. & BÅÅTH, E. 2015. Main factors controlling microbial community structure and function after reclamation of a tailing pond with aided phytostabilization. *Geoderma*, 245, 1-10.