



E.T.S. de Ingeniería de
Caminos, Canales y Puertos
y de Ingeniería de Minas



Universidad
Politécnica
de Cartagena

EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ZEOLITA SOBRE LA FITOESTABILIZACIÓN ASISTIDA EN UN DEPÓSITO MINERO

TRABAJO FIN DE MÁSTER
Máster Universitario en Ciencias y Tecnología del Agua y del Terreno

Cartagena, diciembre del 2019



AUTOR: José Luis Batista Simé
TUTORES: Silvia Martínez Martínez
María Gabarrón Sánchez

ÍNDICE

Resumen	5
Abstract	6
1.INTRODUCCIÓN	7
1.1 Fitorremediación: concepto y técnicas utilizadas para suelos contaminados por metales pesados y metaloides.....	7
1.2 Ventajas y desventajas de la fitoestabilización.....	8
1.3 Tolerancia de las especies vegetales a los metales pesados y metaloides.....	11
1.4 Antecedentes de la aplicación de la técnica de fitoestabilización en emplazamientos mineros	13
2.OBJETIVO	15
3.MATERIALES Y MÉTODOS	16
3.1 Área de estudio	16
3.2 Diseño experimental.....	17
3.2.1 Diseño y construcción de las parcelas de fitoestabilización.....	17
3.2.2 Tipos de enmiendas, dosis y distribución en las parcelas	19
3.2.3 Plantación de las especies vegetales seleccionadas	23
3.2.4 Campañas de muestreo	24
3.3 Métodos de laboratorio.....	25
3.3.1 Análisis de suelo.....	25
3.3.2 Análisis de planta.....	26
3.4 Análisis estadístico.....	27
4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1 Efecto de las enmiendas en la concentración de metales en el suelo de las parcelas.....	27
4.1.1 Propiedades del suelo	27
4.1.2 Metal/metaloide en las enmiendas y en los residuos mineros	30
4.1.3 Concentraciones intercambiables de metal/metaloide.....	34
4.1.4 Concentraciones solubles de metal/metaloide.....	37
4.2 Dinámica de metales en el sistema suelo-planta	39
5.CONCLUSIONES	45

6.REFERENCIAS	46
7.ANEXOS	52

Índice de tablas

Tabla 1. Propiedades y concentraciones totales de metales/oides en las enmiendas.	19
Tabla 2. Tratamientos empleados para enmendar el sustrato del suelo.	19
Tabla 3. Pesos de las enmiendas de cada uno de los tratamientos.....	22
Tabla 4. Propiedades del suelo en el primer muestreo y segundo muestreo. ...	28
Tabla 5. Propiedades del suelo rizosférico.....	29
Tabla 6. Concentraciones totales de zinc (Zn), arsénico (As) y plomo (Pb).	30
Tabla 7. Niveles de referencias propuestos por agencias y por diferentes legislaciones en varios países y provincias de España para los metales pesados de Zn y Pb (mg kg ⁻¹ suelo).	33
Tabla 8. Nivel genérico de referencia para el As en la Región de Murcia.	33
Tabla 9. Concentraciones intercambiables de Zn en los tratamientos 1 (T1), tratamiento 2 (T2) y tratamiento 3 (T3).	36
Tabla 10. Concentraciones intercambiables de As en los tratamientos 1 (T1), tratamiento 2 (T2) y tratamiento 3 (T3).	36
Tabla 11. Concentraciones intercambiables de Pb en los tratamientos 1 (T1), tratamiento 2 (T2) y tratamiento 3 (T3).	36
Tabla 12. Correlación entre las propiedades del suelo y los metales intercambiables.....	37
Tabla 13. Concentraciones de metales totales en planta Piptatherum miliaceum.....	39
Tabla 14. Concentraciones de metales totales en planta Coronilla juncea.	40

Índice de figuras

Figura 1. Imagen satelital del área de estudio en el depósito minero Cabezo Rajao.	16
Figura 2. Imagen satelital del depósito minero Cabezo Rajao.	16
Figura 3. Esquema de distribución de las parcelas en el depósito minero Cabezo Rajao.	17
Figura 4. Detalle del perfil nivelado de la zona en la que se ubicarán las parcelas.	17
Figura 5. Delimitación parcelas.	18
Figura 6. Motoazada para homogeneización residuo.....	18
Figura 7. Esquema distribución de tratamientos en las parcelas.	20

Figura 8. Detalle caliza en parcela.	21
Figura 9. Parcelas con caliza incorporada.....	21
Figura 10. Detalle parcelas enmendadas.	22
Figura 11. Parcelas con enmiendas incorporadas	22
Figura 12. Detalle riego parcela enmendada.....	23
Figura 13. Plantación de las especies.	23
Figura 14. Esquema líneas plantación plantones y semillas.	24
Figura 15. Detalle de afloramiento de nuevos materiales al remover la superficie.	24
Figura 16. Concentraciones solubles de Zn, As y Pb.	38
Figura 17. Factor de bioacumulación de zinc en plantas.	41
Figura 18. Factor de bioacumulación de arsénico en plantas.	41
Figura 19. Factor de bioacumulación de plomo en plantas.	42
Figura 20. Factor de traslocación en la planta <i>Piptatherum miliaceum</i>	43
Figura 21. Factor de traslocación en la planta <i>Coronilla juncea</i>	44

Índice de anexos

Anexo 1

Imagen 1. Parcela N°4 con la aplicación del tratamiento 1 (C+Bc+Z).	52
Imagen 2. Parcela N°12 con la aplicación del tratamiento 1 (C+Bc+Z).	52
Imagen 3. Parcela N°16 con la aplicación del tratamiento 1 (C+Bc+Z).	53
Imagen 4. Parcela N°5 con la aplicación del tratamiento 2 (C+Comp+Z).	53
Imagen 5. Parcela N°8 con la aplicación del tratamiento 2 (C+Comp+Z).	53
Imagen 6. Parcela N°11 con la aplicación del tratamiento 2 (C+Comp+Z).	53
Imagen 7. Parcela N°6 con la aplicación del tratamiento 3 (C+Bc+Comp+Z). .	53
Imagen 8. Parcela N°14 con la aplicación del tratamiento 3 (C+Bc+Comp+Z). .	53
Imagen 9. Parcela N°17 con la aplicación del tratamiento 3 (C+Bc+Comp+Z). .	53

Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo comprobar la eficacia de la adición de enmiendas en la técnica de fitoestabilización asistida para su uso potencial en tareas de rehabilitación ambiental de emplazamiento mineros. Para ello, se han diseñado e implementado parcelas de ensayos en un depósito minero de la Sierra Minera de Cartagena-La Unión, y se ha aplicado la técnica mencionada anteriormente incorporando enmiendas como zeolita, biochar, compost y caliza con el fin de mejorar las condiciones propias del nuevo suelo, favorecer la colonización de las especies vegetales y disminuir la movilidad de metales/oídos. Como especie fitoestabilizadora se seleccionó *Piptatherum miliaceum*, mientras que, para mejorar la fijación de nitrógeno al suelo se empleó *Coronilla juncea*. Para ambas especies se estudió la movilidad y translocación de metales/oídos desde el suelo a la planta.

Los resultados obtenidos mostraron efectos favorables con la aplicación de las enmiendas al suelo, mejorando las propiedades físicoquímicas y logrando la formación de una cobertura vegetal en un suelo donde la posibilidad de la misma era limitada por las concentraciones elevadas de metal/oído. En general se observó una disminución en las concentraciones intercambiables de metal/oído. En el caso del Zn, se obtuvieron mejores resultados tras la aplicación del tratamiento 3 (combinación de caliza (C), biochar (Bc), compost (Com) y zeolita (Z)). También se observó que para el As y Pb la mayor disminución de metal/oído intercambiable fue mediante la aplicación del tratamiento 2 (caliza, compost y zeolita).

Con esta técnica de remediación se favoreció la retención de los metales en el conjunto de raíces de las plantas corroborando la elevada capacidad de *Piptatherum miliaceum* como especie fitoestabilizadora en áreas mineras.

En este estudio se concluye que la incorporación de estas enmiendas en las parcelas de estudio junto con *Piptatherum miliaceum* y *Coronilla juncea* tuvo un impacto positivo en la recuperación del suelo. Por lo tanto, la combinación de estas enmiendas puede ser eficiente para la rehabilitación de depósitos mineros ácidos mediante la fitoestabilización asistida, resultando ser una herramienta viable para aplicar en futuros estudios de rehabilitación ambiental de áreas mineras contaminadas por metales pesados. No obstante, se recomienda continuar monitoreando a largo plazo estas parcelas para evaluar la evolución de las propiedades del suelo y la movilidad de metales pesados, e incluso, testar otras especies vegetales que puedan contribuir a la reducción de los riesgos ambientales y para la salud humana.

Abstract

The aim of this study was verify the effective amendments addition in the phytostabilization technique for its potential use in environmental rehabilitation tasks of mining sites. For this, test plots have been designed and implemented in a mining deposit in Sierra Minera of Cartagena-La Unión, and the technique mentioned before has been applied incorporating amendments such as zeolite, biochar, compost and limestone to improve the properties of the new soil, favor the colonization of plant species and decrease the mobility of metals/oide. *Piptatherum milliaceum* was select as a phytostabilizer species, while *Coronilla juncea* was used to improve nitrogen fixation to the soil. The mobility and translocation of metal/oide from the soil to the plant was studied for both species.

The results obtained showed favorable effects with the application of the amendments to the soil, improving the physico-chemical properties and achieving the formation of a vegetation cover in a soil whose possibility was limited by the high concentrations of metal/oide. In general, a decrease in interchangeable metal/oide concentration was observed. In the case of Zn, better results were obtained after the application of treatment 3 (combination of limestone(C), biochar (Bc), compost (Com) and zeolite (Z)). It was also observed that for the As and Pb the greatest decrease in exchangeable metal/oide was through the application of treatment 2 (combination of limestone, compost and zeolite).

With this technique, the retention of metals/oide in the root part of the plants was corroborated, supporting the high capacity of *Piptatherum milliaceum* as a phytostabilizer species in mining areas.

This study concludes that the incorporation of these amendments in the study plots with *Piptatherum milliaceum* and *Coronilla juncea* had a positive impact on soil recovery. Therefore, the combination of these amendments can be efficient for the rehabilitation of acidic mining deposits through assisted phytostabilization, proving to be a viable tool to apply in future studies of environmental rehabilitation of mining areas contaminated by heavy metals. However, it's recommended to continue monitoring these plots in the long term to evaluated the evolution of soil properties and mobility of heavy metals, and even test other plant species that may contribute to the reduction of environmental and health risks human.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Fitorremediación: concepto y técnicas utilizadas para suelos contaminados por metales pesados y metaloides

La fitorremediación, como concepto de suelos contaminados por metales/oides es relativamente nuevo, a pesar de que se considera haber sido definido en el año 1991 (Agudelo *et al.*, 2005, Núñez, 2002). Se trata de un conjunto de técnicas que, mediante la utilización de varias plantas con capacidades fisiológicas y bioquímicas, puedan ser capaces de asimilar, metabolizar, detoxificar o inmovilizar metales pesados (Freire, 2008). La misma es capaz de reducir las concentraciones de dichos metales donde a través de procedimientos bioquímicos se utilizan las plantas para disminuir, mineralizar o adsorber los contaminantes (Medina Marcos *et al.*, 2014) y para almacenar y eliminar sustancias tóxicas de los metales (García y Reyes, 2009), ya que dichas plantas, a través de su transformación metabólica, son capaces de desarrollarse en simbiosis, o más bien, por ellas mismas (Gómez Orea, 2004).

Por otra parte, es una técnica que promete sanear y restaurar enormemente suelos con concentraciones altas de metales pesados (Marrero-Coto *et al.*, 2012), donde dichos suelos, sedimentos y aguas contaminadas son tratadas in situ mediante el uso de vegetación (Mentaberry, 2011). Además, puede utilizarse vigorosamente para combatir suelos contaminados tales como compuestos orgánicos: benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos; solventes clorados: hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), desechos de nitrotolueno, agroquímicos clorados y organofosforados; y, por último, compuestos inorgánicos como Cd, Cr, Co, Cu, Pb, Ni, Se y Zn. También la fitorremediación remueve metales radioactivos y tóxicos de suelos y aguas (Betancur *et al.*, 2005).

Muñoz Castellanos *et al.* (2010) definen la fitorremediación como el empleo de especies vegetales y microorganismos con ciertas relaciones donde interactúan las raíces de estas, para solucionar los daños que puedan provocar las contaminaciones en los suelos donde sus residuos y sedimentos se consideren inseguros y no apto para su uso, a través de contaminantes orgánicos e inorgánicos mediante las técnicas de fitorremediación. A su vez, de forma biológica permite realizar la descontaminación.

Para suelos contaminados con metales pesados, donde el objetivo es conseguir sanear ambientalmente un suelo degradado, existen diversas técnicas aplicables a la fitorremediación, como son la fitoextracción, fitoestabilización, fitodegradación, fitovolatilización y fitorrestauración, siendo las dos primeras las técnicas más estudiadas (Durán Cuevas, 2011).

La absorción y translocación de los metales pesados desde las raíces hasta las partes aéreas de las plantas, viene definida como la fitoextracción. En muchas ocasiones esta planta es cortada en campo y llevada a una instalación para proceder a su incineración (García y Reyes, 2009). Los residuos de las plantas, cuando se incineran deben ser manejados como peligrosos (Figuerola, 2014), por lo que es necesario realizar una adecuada gestión de los mismos.

La fitoestabilización inmoviliza los metales mediante el uso de plantas tolerantes capaces de acumularlos en sus raíces, reduciendo que sean movilizados y biodisponibles por otras plantas en suelos donde la gran cantidad de contaminantes imposibilita la fitoextracción (García y Reyes, 2009). Las plantas utilizadas por esta técnica presentan un denso sistema radicular que disminuye la disponibilidad de secuestro, lignificación o humificación, por medio de mecanismos, donde la movilidad del contaminante se reduce, evitando que el agua o el aire emigren y disminuyendo la biodisponibilidad en el acceso a la cadena alimenticia. Debido a las altas tasas de evapotranspiración que hay en los suelos, las plantas trabajan absorbiendo la humedad, y tras esto, en la zona de la rizosfera, dicha humedad se mantiene constante (Epa., 1999, López *et al.*, 2005, Núñez *et al.*, 2004).

Por su parte, la degradación de contaminantes a través de las moléculas orgánicas que contienen las plantas conocidas como enzimas, y por la actuación de los microorganismos en la parte rizosférica, recibe el nombre de fitodegradación (Jing *et al.*, 2007, Robinson *et al.*, 2006). En este proceso las especies vegetales adquieren de los suelos la parte considerada contaminada, los metaboliza y los transforma en un material que no tenga riesgos para el medio ambiente (Torres y Zuluaga, 2009). La fitorrestauración está referida a la repoblación de un terreno de áreas contaminadas con bosques mediante especies resistentes y de rápido crecimiento, que previenen la migración de partículas contaminantes y la erosión de los suelos (Jing *et al.*, 2007, Robinson *et al.*, 2006).

1.2 Ventajas y desventajas de la fitoestabilización

La fitoestabilización definida como la limitación del desplazamiento de los contaminantes en el suelo debido al empleo de ciertas especies, a través de la acción de acumular metales en la raíz de las plantas (Epa., 1999, López *et al.*, 2005, Núñez *et al.*, 2004), tiene unas series de ventajas que hace considerar esta tecnología una de las más utilizadas para dar remedio a los suelos contaminados por metales pesados:

- Puede evitar el desplazamiento de metales pesados a las partes aéreas, reduciendo los riesgos para los diferentes elementos de la cadena trófica.

- Se reduce la biodisponibilidad de los contaminantes, aumenta el contenido de materia orgánica en el suelo y mejora su estructura superficial.
- Medioambientalmente resulta más sostenible, más económica y más efectiva, favoreciendo a los suelos que sus procesos naturales progresen (Sánchez Villaluenga, 2015).
- Radica de forma eficaz aquellos residuos que se consideren peligrosos y materiales que no son necesarios, concretamente cuando se necesita una rápida inmovilización y que las aguas superficiales y subterráneas se preserven (Paredes Páliz, 2017).
- Reduce el impacto medioambiental.
- Es una buena opción económica para la erradicación de los contaminantes del suelo (Durán Cuevas, 2011).
- Puede usarse y aplicarse para tratar muchos tipos de metales pesados.
- Es una técnica que hace que el medio ambiente sea agradable estéticamente (Paredes Páliz, 2017).
- Evita que los contaminantes sean dispersados por el agua y el aire al mismo tiempo que va mejorando la calidad del suelo, ya que la erosión disminuye (González Gómez, 2010).
- No genera gases de efecto invernadero y ayuda a la conservación de los recursos naturales (Lasat, 2000, Barceló y Poschenrieder, 2003).
- Se ve una mejoría en las condiciones de la zona a descontaminar, sin demandar una gran inversión ya que se realiza de forma natural generando un nivel de contaminación menor a uno donde exista intervención de forma constante (Pilon-Smits, 2005).
- Presenta una gran ventaja a los procesos de descontaminación que emplean requerimientos energéticos, ya que los costos de estos procesos son elevados, y con esta técnica, que está sustentada en la luz solar, hace que los costos operativos sean un 80% menos que los procesos convencionales (Moriwaka y Erkin, 2003).
- Es una metodología muy aceptada por la población.

- Se generan menos residuos proveniente de toda actividad industrial, la construcción y la generación de energía (Mentaberry, 2011).
- Se puede utilizar para limpiar diferentes tipos de contaminantes por su capacidad de absorción de los metales en las raíces.
- Los metales/oides quedan en las especies vegetales y no en el ambiente (Betancur *et al.*, 2005).
- Evita la excavación y el transporte de estos contaminantes (Guzmán Lloclla, 2013).

Dentro de las desventajas se encuentran:

- Al ser un proceso lento a la hora de aplicarse en un suelo contaminado por presencia de metales pesados, donde la población no puede observar los efectos visibles en poco tiempo, puede causar opiniones negativas y puede afectar los beneficios de la inversión en la fitoestabilización (Domínguez, 2016).
- Si las plantas no están capacitadas para resistir los efectos perjudiciales de los metales, el clima y el estado del suelo, el principal inconveniente de la técnica puede verse afectado por las características de las plantas ya que guardan relación.
- Una limitación es que la profundidad de la raíz de las plantas, deben tener la capacidad de alcanzar el contaminante del suelo. Ya que se pueden llevar años para limpiar un lugar, se puede producir un inconveniente porque el proceso es largo y sólo es aplicable a los suelos superficiales (Mudgal *et al.*, 2010, Moosavi y Seghatoleslami, 2013, Elekes, 2014, Paz-Ferreiro *et al.*, 2014). Otra limitación importante de esta técnica es la toxicidad, debido a que algunos contaminantes pueden acumularse con elevadas concentraciones en las plantas y puede llegar a generar condiciones tóxicas, viéndose la planta, en sus procesos fisiológicos y en su crecimiento, afectada y por ende su capacidad de desarrollo (González Gómez, 2010). Y por último, otra desventaja que se puede señalar es que no todas las plantas son resistentes a crecer en presencia de contaminantes (Arias, 2017).

1.3 Tolerancia de las especies vegetales a los metales pesados y metaloides

La primera limitante para que las plantas se desarrollen, sobre todo en zonas donde se requiere de una gran vegetación, es la alta disponibilidad de metales/oides. Por ello, es importante que las especies vegetales que se seleccionen en la técnica de fitoestabilización sean tolerantes a dichas concentraciones de metal/oide para garantizar el éxito de su crecimiento y, por siguiente, la recuperación de suelos. Se pueden utilizar especies herbáceas, arbustivas y árboles, algunos ejemplos son: *Anthoxanthum odoratum*, *Agrostis canina*, *A. capillaris*, *A. stolonifera*, *Deschampsia cespitosa*, *D. flexuosa*, *Festuca rubra*, *F. ovina*, *Holcus lanatus* y *Silene vulgaris* (González-Chávez, 2005).

Para que un sistema de fitorremediación sea eficiente, requiere que las especies de plantas utilizada para su fitoestabilización, cumpla con dos requerimientos: capacidad de acumulación (absorción, detoxificación y secuestro) y la tolerancia a los metales. Si una planta tiene la posibilidad de sobrevivir a más de un metal en el medio de crecimiento, se considera que es la más adecuada (Medina Marcos *et al.*, 2014).

Las diferentes especies de plantas que crecen sobre un suelo enriquecido en metales pesados presentan mecanismos de tolerancia sobre todo internos que les permite desarrollar una serie de adaptaciones fisiológicas y bioquímicas que ayudan a colonizar estos suelos. Según Antonovics (1971), se pueden presentar dos casos de tolerancia: a) otras plantas desarrollándose en zonas contaminada donde otras especies no puedan crecer; b) especies que nunca han sido tolerantes, pero que pueden lograr a serlo. La tolerancia es heredable y estable en su genética. Debido a esto, las semillas de una planta pueden ser usada sin que su capacidad se pierda.

Ernest (1976) demostró que existen especies vegetales capaz de tolerar metales presentando menos desarrollo en su crecimiento y biomasa respecto a otras especies que no son tolerantes, debido a la energía que los mecanismos de tolerancia gastan.

El grado de tolerancia de la planta al metal es uno de los aspectos por el cual un proceso de fitorremediación de metales pesados es considerado exitoso, ya que esto determinará la capacidad de acumulación de metales que la planta pueda absorber (Khan, 2005, Salt, 2000). En el caso de los metales pesados, la tolerancia y la capacidad de absorción y acumulación de contaminantes que presentan las plantas, están regidas en gran parte por sus genes (Eapen y D'souza, 2005).

Existe un gran número de especies capaces de tolerar concentraciones altas de metales/oides en el suelo porque limitan la translocación y absorción hacia las hojas, lo que mayormente se conoce como estrategia de exclusión, sin

embargo, otras no las restringen, sino que absorben y acumula de forma activa en su biomasa aérea, lo que se conoce como estrategia acumuladora, por lo que es necesario precisar un pensamiento especializado (Baker y Walker, 1990).

En algunas zonas mineras se ha observado una colonización inicial de un gran abanico de especies vegetales y significativa cobertura vegetal, y sin embargo, al aumentar con el tiempo los metales intercambiables, se ha producido una reducción de la cobertura vegetal. De manera, que sólo las plantas metalófitas y pseudometalófitas, consideradas hipertolerantes a elevadas concentraciones de metales, pueden llegar a sobrevivir (Becerril *et al.*, 2007). Baker (1981) clasificó estas plantas según su estrategia de tolerancia y el factor de bioacumulación en función del contenido del contaminante en el sustrato del desarrollo, en tres grupos.

En suelo que son ricos en metales, se encuentran especies vegetales capaces de mostrar niveles bajos de metales en sus tejidos pese a las altas concentraciones a las que se enfrentan, pero también, otras especies desarrolladas en áreas con alto contenido de metales, no muestran toxicidad a pesar de que muestran elevadas concentraciones, y es necesario distinguir los tres grupos de clasificación de las especies metalófitas y pseudometalófitas entre plantas exclusoras, indicadoras y acumuladoras (Baker *et al.*, 1981).

Por otra parte, la tolerancia a la vegetación frente a una cantidad excesiva de metal, suele estar directamente relacionada con los parámetros de crecimiento. Cuando la raíz está en crecimiento, indica que es específicamente sensible a la toxicidad metálica (Diez Lázaro, 2008).

Para predecir la especie vegetal más adecuada para condiciones bajo contaminación por metales pesados, Wilkins (1978) definió un índice de tolerancia (TI) como el cociente entre lo que mide la raíz en un medio contaminado y lo que mide la raíz en un medio no contaminado, expresado en por ciento. El mismo índice es calculado de otra forma por otros autores, utilizando parámetros diferentes como el peso seco de lo que se considera parte aérea de las especies (Dos Santos Utmaziam *et al.*, 2007, Kuzovkina *et al.*, 2004, Watson *et al.*, 2003).

El uso de agentes quelantes con exudación natural, como los ácidos orgánicos, juega un papel importante en plantas exclusoras, ya que permiten que los metales tengan tolerancias y formen complejos que produzcan una detoxificación del metal en la región de la rizosfera (Diez Lázaro, 2008).

La toxicidad de los metales cuando se consideran contaminantes, desarrolla consecuencias perjudiciales en el crecimiento de las plantas y la salud, por lo que a medida que la planta tolera menos, mayor será el impedimento a crecer de la misma, cuando se trata de zonas no contaminadas (Dos Santos

Utmaziam *et al.*, 2007, Kidd *et al.*, 2004, Kuzovkina *et al.*, 2004, Shu *et al.*, 2002, Watson *et al.*, 2003, Wilkins, 1978).

Por lo tanto, según lo comentado anteriormente, las especies más idóneas para ser utilizadas en la técnica de fitoestabilización, además de soportar los altos contenidos de metales/oides, deben de ser deficientes en su translocación hacia los tejidos aéreos (Orchard *et al.*, 2009).

1.4 Antecedentes de la aplicación de la técnica de fitoestabilización en emplazamientos mineros

La fitoestabilización es una tecnología que ha sido demostrada y defendida por interesantes estudios realizados de suelos contaminados por metales/oides en varios países del mundo, lo que ha permitido mostrar en este trabajo una visión de esta técnica a escala mundial, europea y nacional.

A escala mundial:

En México se han realizado estudios para evaluar los efectos de las enmiendas empleando la fitoestabilización en un suelo contaminado por Pb y Zn, y pudieron observar que la aplicación de cal y serrín pudieron reducir las concentraciones de Pb y Zn biodisponible en el suelo, lo que conllevó a hacer la fitoestabilización más efectiva gracias a estas disminuciones significativas de concentraciones (Hernández y Denisse, 2011) .

En Chile se ha llevado a cabo estudios de evaluación para el uso de *Atriplex Nummularia*, con la aplicación de enmiendas húmicas para la fitoestabilización de depósitos mineros, donde utilizaron enmiendas orgánicas, en este caso Perl Humus y compost, y observaron que se podría recomendar el uso de la especie vegetal utilizada, ayudada por la enmienda orgánica Perl Humus para la estabilización química del depósito, debido a que esta enmienda presentó ventajas sobre el compost, principalmente para la acumulación en raíz de Cu y S (Loch Arellano, 2017).

En Perú se han realizado estudios donde el objetivo fue establecer la cantidad de cadmio que pudieron fitoestabilizar empleando la especie *Lupinus Mutabilis* en un suelo contaminado del distrito El Mantaro, empleando varias dosis de estiércol de lombriz, donde determinaron el factor de bioacumulación en la raíz y en la parte aérea, y la relación de esta en el crecimiento de la especie. Encontraron 31,98 mg/kg de cadmio y pudieron fitoestabilizar en las raíces de *Lupinus Mutabilis* 13,33 mg/kg. A su vez, se comprobó que la planta creció 13,33 cm en promedio y 12,50 cm en sus raíces, concluyendo que, para las remediaciones de suelos agrícolas y mineros contaminados, se recomienda

dicha planta para que la raíz absorba metales, donde no afectará en el crecimiento y en la parte aérea, lo que se puede decir que la especie *Lupinus Mutabilis* tiene un alto potencial en la fitoestabilización (Zárate y Camila, 2018).

En Missouri (Estados Unidos), se hizo otro estudio aplicando la técnica de fitoestabilización para Zn y Cd, donde utilizaron maíz en combinación con enmiendas de biochar y compost a base de estiércol en un suelo minero. En este caso, se evaluaron el efecto interactivo de las adiciones de biochar con o sin el abono a base de estiércol en el tallo y en las raíces y el factor de bioconcentración de Zn y Cd en el maíz cultivado en el suelo minero. Los resultados mostraron que la incorporación del biochar mejoró la fitoestabilización de Zn y Cd, consiguiendo, por un lado, una reducción en los contenidos de metales solubles en agua y, por otro, un aumento en la productividad de la biomasa del maíz (Sigua *et al.*, 2019).

A escala europea:

En Francia se desarrolló un estudio con la finalidad de elegir la mejor enmienda para usar en el campo, estudiándose cómo la adición de tres tipos de enmiendas diferentes (biochar, compost y arenilla de hierro), aplicadas de forma sola o combinadas, podría afectar las condiciones fisicoquímicas del suelo, al crecimiento de la planta *Salix Viminalis* y a la estabilización de los metales. Los resultados mostraron que el biochar y el compost mejoraron la fertilidad y las características de agua de los poros, con reducciones de la acidez, movilidad y toxicidad del metal, mientras que la enmienda de arenilla de hierro presentó efectos negativos sobre dichos parámetros, por lo que el uso del compost o una combinación de biochar-compost mostró mejores resultados en términos de mejora de las propiedades, aumento en el desarrollo de las plantas y reducción de la translocación de metales/oídos hacia las partes superiores, haciendo de esta combinación, una valiosa opción para una prueba de campo (Lebrun *et al.*, 2019).

A escala Nacional:

En Cartagena-La Unión (Murcia), específicamente la Sierra Minera, se llevó a cabo un estudio de una evaluación del conjunto de propiedades del suelo, disponibilidad de metales/oídos y vegetación, tras recuperarse empleando fitoestabilización asistida, donde con la aplicación de tres enmiendas (purín de cerdo, el estiércol de cerdo y el residuo de mármol), podían incorporar la falta de materia orgánica, aportando nutrientes, resolviendo la ausencia de estructura edáfica y logrando reducir la biodisponibilidad de los metales/oídos, para crear una comunidad vegetal, donde concluyeron que la combinación de estas tres

enmiendas han podido demostrar ser eficientes en el depósito minero estudiado, aplicando la fitoestabilización asistida. Esta técnica permitió aumentar el pH, la capacidad de intercambio catiónico, la materia orgánica, perfeccionar la estructura edáfica y lograr que los metales/oídos se vuelvan inmóviles (Sánchez Villaluenga, 2015).

Por otra parte, en otro estudio que trata sobre fitoestabilización de un suelo minero del Valle de Lozoya (Norte de Madrid), aplicaron como enmiendas compost de corteza de pino y estiércol de caballo y oveja junto con la especie *Brassica juncea* comprobando una notable disminución de los contenidos intercambiables del tallo, concretamente, 10-50% de Cu y 40-80% de Zn en comparación a los suelos que no fueron enmendados, mostrando la eficacia de la aplicación de esta técnica (Pérez-Esteban *et al.*, 2014).

2. OBJETIVO

Este trabajo se ha realizado como parte de una actividad de investigación enmarcada en el proyecto Soil Take Care (Interreg Sudoe), cuyos objetivos principales son la mejora en la gestión y rehabilitación de suelos contaminados mediante el desarrollo de herramientas y metodologías innovadoras para lograr diagnósticos, rápidos y de bajo coste, y la mejora en el avance de técnicas para remediar suelos, entre otros.

Este trabajo consta de un objetivo principal, el cual es la evaluación de la eficacia de la adición de zeolitas y otras enmiendas como caliza, biochar y compost animal en la fitoestabilización asistida llevada a cabo en las parcelas de residuos mineros para mejorar las propiedades físicas y físico-químicas, así como, la capacidad de inmovilización de metales/oídos.

Para cumplir con el objetivo principal del trabajo, se plantean los siguientes objetivos específicos:

1. Diseñar e implementar parcelas de ensayo en un depósito minero aplicando la técnica de fitoestabilización asistida que consistió en la adición de las enmiendas zeolita, compost, biochar y caliza y, posterior siembra de las especies *Piptatherum miliaceum* (especie fitoestabilizadora) y *Coronilla juncea* (especie fijadora de nitrógeno).
2. Analizar la evolución de las propiedades y metales/oídos en los residuos enmendados.
3. Estudiar la movilidad y translocación de metales/oídos desde el suelo a la planta.
4. Comprobar la idoneidad de las enmiendas aplicadas en las parcelas y de las especies vegetales como *Piptatherum miliaceum* (fitoestabilizadora) y

Coronilla juncea (fijadora de nitrógeno) para su uso potencial en tareas de rehabilitación ambiental de emplazamiento mineros.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Área de estudio

Este estudio fue llevado a cabo en el depósito minero del Cabezo Rajao, localizado en Cartagena-La Unión (La Sierra Minera), ($37^{\circ}37'9.27''N$, $0^{\circ}54'6.00''W$) (Figuras 1 y 2). Para la implementación de las parcelas se adecuó un tramo de la superficie de dicho depósito de 26m de largo y 21m de ancho.

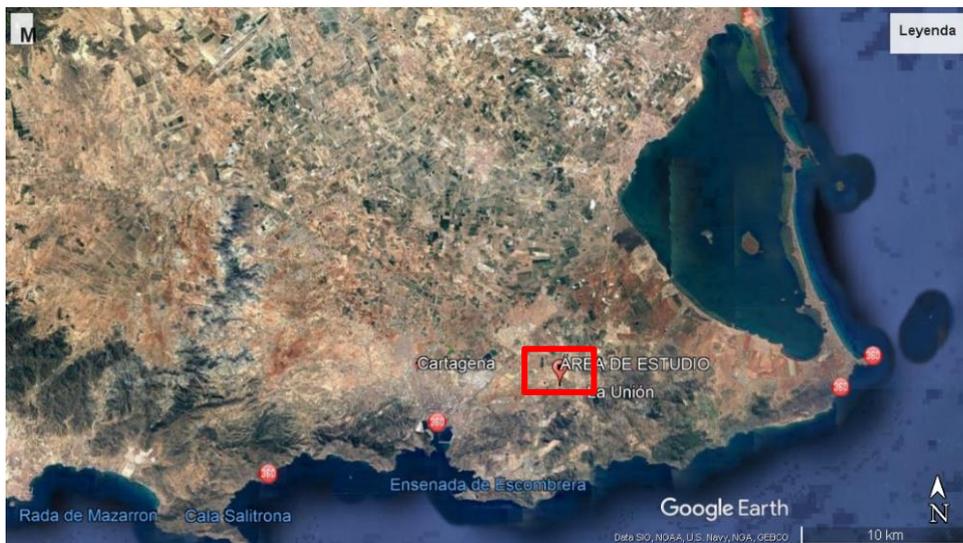


Figura 1. Imagen satelital del depósito minero Cabezo Rajao (Área de estudio).



Figura 2. Imagen satelital del depósito minero Cabezo Rajao.

3.2 Diseño experimental

3.2.1 Diseño y construcción de las parcelas de fitoestabilización

Para el desarrollo del proyecto se diseñaron 21 parcelas de 3x3 metros, separadas a 1 metro en el eje horizontal y 2 metros en el eje vertical, donde se distribuyeron cuatro líneas, tres de 6 parcelas y una de 3 parcelas. Para disminuir los efectos de la erosión hídrica en las parcelas, se dispusieron láminas de galvanizado de 30 cm de altura y 2 mm de grosor, entre el perímetro del conjunto de parcelas y las líneas, para formar una estructura sólida, dejando espacio a la derecha de 1 metro para el drenaje del agua fuera del área de estudio (Figura 3).

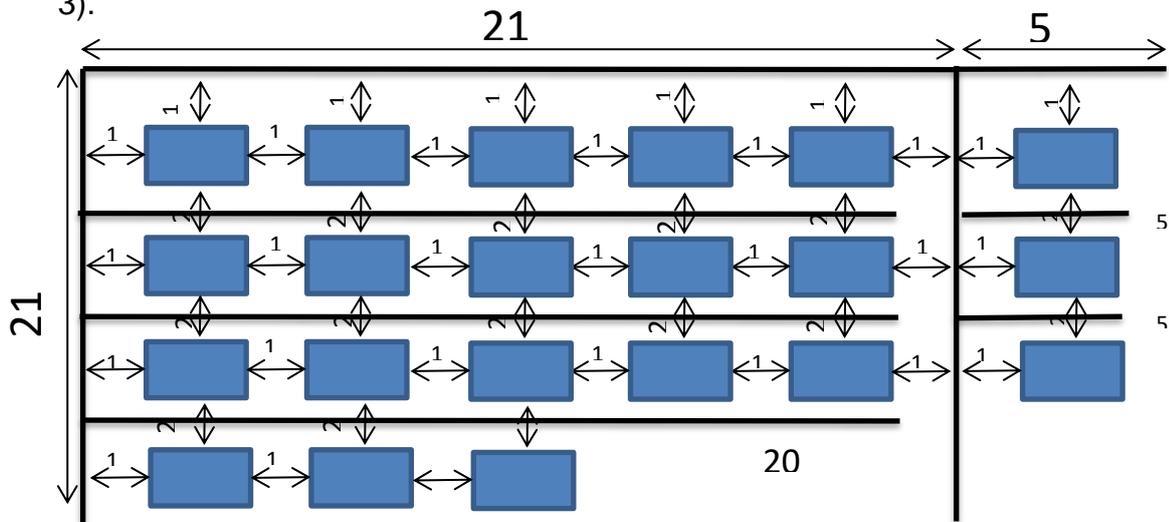


Figura 3. Esquema de distribución de las parcelas en el depósito minero Cabezo Rajao.

Para que las enmiendas a utilizar se puedan aplicar exitosamente, ha sido necesario nivelar la superficie del depósito donde las parcelas de ensayos se iban a situar, con el fin de evitar las escorrentías y obtener un terreno más blando en dichas parcelas (Figura 4).



Figura 4. Detalle del perfil nivelado de la zona en la que se ubicarán las parcelas.

Antes de iniciar con el proceso de la incorporación de las enmiendas, se inician las labores de delimitación de las parcelas y comienzan a remover el residuo de las parcelas con una motoazada, para que esté más suelto y homogéneo, logrando finalmente una profundidad de 40 cm (Figura 5 y 6).



Figura 5. Delimitación parcelas.



Figura 6. Motoazada para homogeneización residuo.

3.2.2 Tipos de enmiendas, dosis y distribución en las parcelas

Las enmiendas seleccionadas en el estudio del proyecto Soil Take Care son: polvo de caliza, por su elevado contenido en carbonatos, que tienen la capacidad de reaccionar con los residuos mineros, provocando un aumento de pH y la precipitación de metales (Zornoza *et al.*, 2013); el biochar como fuente de carbono de liberación más lenta que otros compuestos (Ok *et al.*, 2015) como el compost, utilizado generalmente como fuente de carbono más lábil (Lebrun *et al.*, 2019); y finalmente la zeolita, seleccionada por su capacidad para disminuir la movilidad de los metales.

Las concentraciones máximas y mínimas de metal/oide en las enmiendas fueron analizadas antes de añadirla (Tabla 1). La enmienda que contiene mayor concentración de Zn es el compost y por su parte, As y Pb registran mayores contenidos en la zeolita.

Tabla 1. Propiedades y concentraciones totales de metales/oideas en las enmiendas.

ENMIENDAS	Propiedades					Contenido total de metales/oideas		
	pH	C (%)	C. Orgánico (%)	C. Inorgánico (%)	CaCO ₃	Zn	As	Pb
						mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
Biochar (Bc)	11,1	70,0	71,4	*	*	21,1	0,7	11,1
Caliza (C)	8,7	*	*	*	*	11,8	1,9	15,7
Zeolita (Z)	7,0	*	*	*	*	25,5	15,2	44,8
Compost (COM)	9,5	19,1	17,7	1,4	11,5	260,7	3,1	43,1

La combinación de estas enmiendas entre sí, da lugar a 6 tratamientos (Tabla 2). Además, se ha estipulado un tratamiento control en el que se dejará el residuo sin enmendar como sustrato comparativo de la evolución de los metales en el suelo con o sin enmienda.

Tabla 2. Tratamientos empleados para enmendar el sustrato del suelo.

TRATAMIENTOS
1. Control
2. Caliza+Biochar
3. Caliza+Compost
4. Caliza+Biochar+Compost
5. Caliza+Biochar+Zeolita
6. Caliza+Compost+Zeolita
7. Caliza+Biochar+Compost+Zeolita

Tras el muestreo inicial, se comienza a incorporar a las parcelas 1170 kg de caliza por parcela (Figura 8 y 9).



Figura 8. Detalle caliza en parcela.



Figura 9. Parcelas con caliza incorporada.

En la Tabla 3 se muestran los pesos de cada enmienda por parcela en función de los tratamientos aplicados en este trabajo (Figura 10 y 11).

Tabla 3. Pesos de las enmiendas de cada uno de los tratamientos.

Parcelas 4,12,16 (C+Bc+Z)		Parcelas 5,8,11 (C+Com+Z)		Parcelas 6,14,17 (C+Bc+Com+Z)	
En cada parcela		En cada parcela		En cada parcela	
Caliza	1170 kg	Caliza	1170 kg	Caliza	1170 kg
Biochar	145 kg	Compost-Estíercol	353 kg	Biochar	73 kg
Zeolita	111 kg	Zeolita	111 kg	Compost-Estíercol	177 kg
				Zeolita	111 kg



Figura 10. Detalle parcelas enmendadas.



Figura 11. Parcelas con enmiendas incorporadas

Para ayudar a que las reacciones químicas ocurran, una vez finalizada la incorporación de todas las enmiendas, se procede a dar un primer riego, con la mitad de la dosis normal (Figura 12).

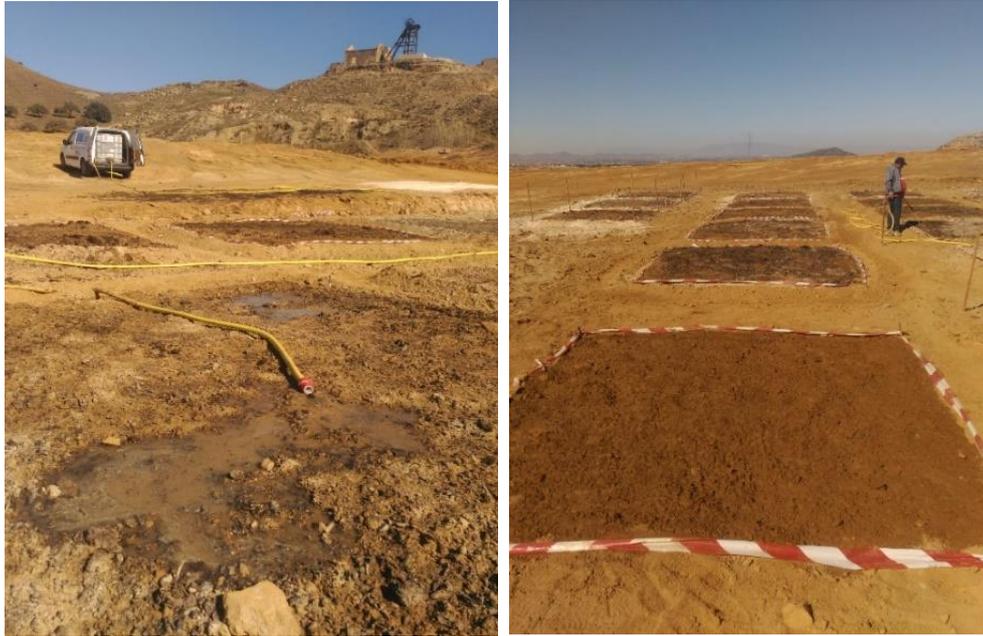


Figura 12. Detalle riego parcela enmendada.

3.2.3 Plantación de las especies vegetales seleccionadas

Transcurrido 5 días desde el riego, se plantan dos tipos de especies, *Piptatherum miliaceum* en plantón y en semilla como planta fitoestabilizadora, y *Coronilla juncea* en plantón como especie fijadora de nitrógeno (Figura 13).



Figura 13. Plantación de las especies.

Para las parcelas 4,5,6,8,11,12, y 14 (Anexo 1-8), el marco de plantación fue 17 plantas de *Coronilla* y 7 plantas de *Piptatherum*, quedando para las

parcelas 16 y 17, 4 plantas de *Piptatherum* y 17 plantas de *Coronilla*. En las parcelas control (CT1, CT2 y CT3) se han plantado 17 plantas de *Coronilla* y 3 plantas de *Piptatherum*, habiendo 2 líneas por parcela de semillas de *Piptatherum* plantadas en hilera. (Figura 14).



Figura 14. Esquema líneas plantación plantones y semillas.

Una vez acabada la plantación, al total de las parcelas se les irriego 2100 litros y para evitar que la entrada de fauna pueda comerse las plantas, se han colocado un cerco de malla conejera en todo el perímetro que rodea las parcelas.

3.2.4 Campañas de muestreo

Se realizó un muestreo inicial previo a las obras de adecuación de las parcelas. Sin embargo, estas obras de nivelación del depósito ocasionaron que nuevos materiales, diferentes a los del resto de la superficie, aflorasen. Debido a esto se tuvo que hacer un nuevo muestreo, donde paso a considerarse como muestreo inicial (M0) el día 8 de febrero, tomando una muestra compuesta por 3 submuestras en cada una de las parcelas (Figura 15).



Figura 15. Detalle de afloramiento de nuevos materiales al remover la superficie.

El siguiente muestreo de las parcelas (M1), se realizó el día 4 de marzo de 2019, 5 días tras haber transcurrido desde que se finalizó la adición de enmiendas y se hizo el primer riego, procediendo del mismo modo que en el primer muestreo, con muestras compuestas.

En el último muestreo (M2), no solo se tomaron muestras de suelo superficial en cada una de las parcelas, también se tomó muestra de las plantas. Este fue realizado el día 6 de junio del 2019 y se tomó un ejemplar de cada especie por parcela acompañada de su correspondiente suelo rizosférico. Es de destacar que en las parcelas 5,6 y 8 no se apreciaron plantas de la especie *Coronilla juncea*.

3.3 Métodos de laboratorio

3.3.1 Análisis de suelo

Las muestras fueron transportadas en bolsas de material polietileno hasta el laboratorio, donde se secaron en estufa a 50°C durante 48h. Una vez secas se tamizaron manualmente pasando las muestras por un tamiz de 2mm de luz de malla. Para la determinación del contenido total de metales y del contenido en carbono inorgánico, se procedió a moler una parte de la muestra tamizada utilizando un molino de ágata.

Para cada una de las muestras de residuo, enmiendas y suelo (residuos enmendados) rizosférico y no rizosférico, se determinaron las siguientes propiedades fisicoquímicas: pH, conductividad eléctrica (CE), densidad aparente y contenido en carbonatos. Además, se determinó la concentración total, intercambiable y soluble de los metales Pb y Zn y de As en cada una de las muestras.

Se midieron el pH y la conductividad eléctrica utilizando un pH-metro luego de agitar 8g de suelo tamizado con 20 ml de agua desionizada, durante 10 minutos, y un conductímetro luego de agitar el mismo suelo adicionando 20 ml de agua desionizada durante 30 minutos (USDA, 2004).

La densidad aparente se determinó mediante el método del cilindro (método de medida directa de la masa y el volumen) (Campbel y Hensall, 1991). Consiste en tomar una muestra insertando el cilindro en el suelo a estudiar, hasta que ocupe todo su volumen y pesando la masa para expresarla en función del volumen ocupado.

El contenido de carbono inorgánico (CI) se determinó mediante un analizador elemental de carbono TOC-V CSH de Shimadzu. Este equipo permite analizar el contenido de carbono orgánico total (COT) y carbono orgánico (CO) de un suelo, de manera que la cuantificación del CI en una muestra de suelo se calcula por diferencia entre el COT y el CO.

El contenido total de Zn, As y Pb se obtuvo mediante digestión ácida asistida por microondas, utilizando el protocolo US-EPA 3051. En él se digieren 0.5 g de suelo molido en tubos de digestión de teflón (MARSXpress) con la adición de 10 ml de ácido nítrico al 69% (HNO₃).

La fracción intercambiable de Zn, As y Pb se obtuvo pesando 4 g de suelo tamizado (<2 mm) al que se le añadió 40 ml de CaCl₂ 0,01 M, dejando durante 2 horas el extracto en una placa agitadora y centrifugando posteriormente a 3000 rpm durante 5 minutos para clarificar el extracto (Houba *et al.*, 1996).

La fracción soluble de Zn, As y Pb se obtuvo al pesar 8 g de suelo tamizado (<2 mm), adicionando 40 ml de agua Milli-Q (Tipo 1) en relación 1:5, y agitando el extracto mediante una placa agitadora durante 6 horas. Posteriormente se somete a centrifugación de 2100 rpm durante 5 minutos (Buurman *et al.*, 1996; Frau, 2000).

La concentración total, intercambiable y soluble de los metales en los extractos fue medida mediante ICP-MS.

3.3.2 *Análisis de planta*

Para el análisis de las plantas, se recogieron muestras de dos especies diferentes, 9 ejemplares de *Piptatherum miliaceum* y 6 ejemplares de *Coronilla juncea*, para analizar las concentraciones de metales/oideas en tallo y raíz. Para ello cada ejemplar se separó en raíz y tallo, por lo que de *Piptatherum miliaceum* se obtuvo un total de 9 muestras de raíz y 9 muestras de tallo, y de *Coronilla juncea* se tuvo 6 muestras de raíz y 6 muestras de tallo.

Antes de comenzar los respectivos análisis de estas muestras, las raíces y tallos fueron secadas en estufa hasta alcanzar un peso constante. Una vez seca, se procedió a molerla en un molinillo para determinar su pH, conductividad eléctrica, metales totales, intercambiables y solubles contenidos en dichas muestras, y proceder a interpretar los resultados obtenidos.

El contenido de metales/oideas en planta se obtuvo mediante digestión ácida en microondas, utilizando el método US-EPA 3052. En él se digieren 0.5 g de planta molida en tubos de digestión de teflón (MARSXpress) con la adición de 10 ml de ácido nítrico al 69% (HNO₃), 1 ml de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y 0.5 ml de ácido clorhídrico al 35% (HCl).

Para el suelo rizosférico se analizaron las propiedades del pH, conductividad eléctrica, así como la concentración total de metales/oideas, para así tener una idea de la cantidad que cada una de esas plantas está absorbiendo de dichos metales pesados.

3.4 Análisis estadístico

Los datos de las muestras analizadas, se presentaron haciendo un ajuste mediante una media entre los distintos tratamientos aplicados y la cantidad de muestreo llevados a cabo, utilizando formulas y herramientas, en Microsoft Excel, tanto para calcular la media, como para la desviación estándar y las correlaciones de Pearson.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto de las enmiendas en la concentración de metales en el suelo de las parcelas

4.1.1 *Propiedades del suelo*

Las propiedades del suelo son aquellas características consideradas útiles e importantes para su identificación y que determinan la productividad del mismo. Existen tres tipos de propiedades, físicas, químicas y bioquímicas.

Dentro de las propiedades físicas analizadas en este documento, se encuentra la densidad aparente (Tabla 3), la cual se define como el efecto que causa una masa de suelo seca por unidad de volumen ocupado en el campo, donde se permite conocer la compactación del suelo, para determinar si el suelo es de mucha o poca porosidad y si la infiltración del agua es rápida o lenta (Acosta et al., 2018).

Dentro de las propiedades químicas se encuentra el pH, la conductividad eléctrica y el carbono orgánico e inorgánico (Tabla 4-5).

Los resultados del pH muestran que hubo un incremento del mismo debido a la incorporación de las enmiendas en los distintos tratamientos. Antes de la incorporación de las enmiendas el pH se mostraba ácido en los rangos (3,37-4,59), debido a la naturaleza del propio residuo minero y por los procesos de oxidación que tienen lugar en el mismo. La pirita (FeS_2) que está presente en los residuos mineros puede liberar acidez, sulfato y otros elementos cuando se oxida. Después de incorporar la caliza en las parcelas de estudio el valor del pH pasó de ser ácido a básico en los rangos (7,19-7,64), este incremento fue resultado de la presencia de carbonatos procedentes de la caliza incorporada que neutralizan la acidez de estos residuos mineros. Resultados parecidos del incremento del pH fueron reflejados por Martínez-Martínez (2014) donde cita que esto se debe a los carbonatos que atacan la acidez del mismo para neutralizar el suelo. Por lo tanto, se muestra la importancia de la aplicación de enmiendas, ya que sin estas incorporaciones, resulta muy difícil que en estos suelos se

establezca una cobertura vegetal (Xiong, 2016) y ayude a la estructura del suelo para que las plantas se puedan desarrollar exitosamente.

La conductividad eléctrica (Tabla 4) presenta valores que oscilan entre 3,0-3,8 dS m⁻¹, antes de la incorporación de las enmiendas, con un valor medio de 3,4 dS m⁻¹. Después de la incorporación de las enmiendas los valores presentan un rango de 2,3-3,9 dS m⁻¹. Gemmell (1981) y Williamson *et al.* (1982) mencionan que comúnmente las plantas pueden sobrevivir en condiciones donde la conductividad eléctrica se encuentre en un rango de 0-2 dS m⁻¹ con excepción de algunas que presentan cierta habilidad para tolerar concentraciones salinas más elevadas, resistiendo a valores en rango de 4-8 dS m⁻¹. En el suelo rizosférico la conductividad eléctrica presenta valores entre 2,6-5,6 dS m⁻¹ (Tabla 5).

En cuanto al carbono orgánico e inorgánico del suelo antes de enmendar (Tabla 4), se observa que el carbono orgánico es muy bajo (<0.3%), esto es debido a la falta de aporte de la materia orgánica (Navarro, *et al.*, 2019) y el escaso o nulo contenido de carbonato cálcico presente en los residuos mineros, respectivamente. Después de la incorporación de las enmiendas, se muestra un incremento importante, oscilando los valores entre 0,6-2,7% de carbono orgánico y 4-7,2% de carbono inorgánico.

Los parámetros de las propiedades bioquímicas no se estudiaron en este trabajo.

Tabla 4. Propiedades del suelo en el primer muestreo y segundo muestreo.

MUESTREO 1 (M0)					
TRATAMIENTO 1: C+BC+Z					
MUESTRAS	pH	C-E (mS cm⁻¹)	Densidad Aparente g cm⁻³	CI (%)	CO (%)
4	3,9	3,0	1,4	<LD	0,1
12	3,4	3,7	1,6	<LD	0,1
16	3,5	3,6	1,3	<LD	0,1
TRATAMIENTO 2: C+Compost+Z					
MUESTRAS	pH	C-E (mS cm⁻¹)	Densidad Aparente g cm⁻³	CI (%)	CO (%)
5	4,6	3,2	1,2	0,1	0,2
8	3,4	3,6	1,4	<LD	0,2
11	3,4	3,5	1,4	<LD	0,1
TRATAMIENTO 3: C+BC+Compost+Z					
MUESTRAS	pH	C-E (mS cm⁻¹)	Densidad Aparente g cm⁻³	CI (%)	CO (%)
6	3,5	3,8	1,3	<LD	0,1
14	3,4	3,7	1,1	<LD	0,1
17	3,4	3,3	1,5	<LD	0,1

MUESTREO 2 (M1)				
TRATAMIENTO 1: C+BC+Z				
MUESTRAS	pH	C-E (mS cm⁻¹)	CI (%)	CO (%)
4	7,4	2,3	4,0	0,6
12	7,6	2,3	6,5	1,9
16	7,6	2,5	5,1	1,0
TRATAMIENTO 2: C+Compost+Z				
MUESTRAS	pH	C-E (mS cm⁻¹)	CI (%)	CO (%)
5	7,2	3,9	4,0	2,1
8	7,5	3,9	5,2	2,7
11	7,7	2,8	6,7	1,0
TRATAMIENTO 3: C+BC+Compost+Z				
MUESTRAS	pH	C-E (mS cm⁻¹)	CI (%)	CO (%)
6	7,6	3,5	7,2	1,3
14	7,5	3,6	6,2	1,9
17	7,7	2,5	6,4	2,1

Tabla 5. Propiedades del suelo rizosférico.

SUELO RIZOSFÉRICO		
MUESTRAS	pH	C-E (mS cm⁻¹)
p04-coronilla	7,3	2,6
p04-pipta	7,3	2,8
p05-pipta	6,8	5,6
p06-coronilla	7,4	4,3
p06-pipta	7,2	4,9
p08-pipta	7,3	3,2
p11-coronilla	7,3	3,2
p11-pipta	7,4	3,5
p12-coronilla	7,4	2,8
p12-pipta	7,4	3,1
p14-coronilla	7,3	3,0
p14-pipta	7,2	4,4
p16-coronilla	7,5	2,9
p16-pipta	7,7	3,4
p17-coronilla	7,4	3,3
p17-pipta	7,3	2,8

La incorporación de enmiendas al suelo evidentemente forma parte de la técnica de fitoestabilización asistida, y se ha observado que estas enmiendas son capaces de mejorar el suelo de forma física y química, ya que los nutrientes que contienen son considerados útil para los microorganismos y las especies vegetales (Barker, 1997).

4.1.2 Metal/oide en los residuos mineros

En la Tabla 6 se muestran los contenidos totales de metales/oideas, apreciándose elevados valores tanto de Zn y Pb como de As, aunque los contenidos totales de Zn son superiores al resto de los metales/oideas. Concretamente, los valores medios del Zn en el tratamiento 1 (C+Bc+Z), tratamiento 2 (C+Compost+Z) y tratamiento 3 (C+Bc+Compost+Z) oscilan entre 1159-2525 mg kg⁻¹, 1777-3636 mg kg⁻¹ y 419-1085 mg kg⁻¹, respectivamente. En el caso del As, los valores medios en el tratamiento 1, tratamiento 2 y el tratamiento 3 varían en los rangos 49,3-120 mg kg⁻¹, 42,1-111 mg kg⁻¹ y 30,9-142 mg kg⁻¹ respectivamente. Por último, los valores medios del Pb en los tres tratamientos, oscilan entre 400-786 mg kg⁻¹, 283-625 mg kg⁻¹ y 240-1011 mg kg⁻¹.

La técnica de la fitoestabilización asistida es útil para el manejo de metales/oideas, tales como el Zn, As y Pb (EPA, 2000; Peng et al., 2009). Estos elementos estudiados se pueden presentar en concentraciones elevadas en el suelo, ocasionando efectos dañinos sobre el medioambiente y la cadena trófica. De ahí el interés de evaluar el grado de acumulación de metal/oide en el suelo. El problema radica en la inexistencia de normativas que regulen la presencia o no de contaminación en los suelos/residuos mineros, por ello los investigadores se ven obligados a consultar normativas establecidas para otros usos de suelo. En nuestro caso, haremos referencia a los niveles de referencia de metales/oideas (concentración máxima permitida del elemento para considerar el suelo como no contaminado) propuestos en diferentes estudios.

Tabla 6. Concentraciones totales de zinc (Zn), arsénico (As) y plomo (Pb).

TRATAMIENTO 1: C+BC+Z		Zn		
	Valor Máximo (mg kg ⁻¹)	Valor Mínimo (mg kg ⁻¹)	Media (mg kg ⁻¹)	Desviación estandar
Mo	4258	1537	2525	1506
M1	2141	432	1159	883
M2	1898	983	1408	461

TRATAMIENTO 2: C+Compost+Z			Zn	
	Valor Máximo (mg kg ⁻¹)	Valor Mínimo (mg kg ⁻¹)	Media (mg kg ⁻¹)	Desviación estandar
Mo	8522	1114	3636	4233
M1	4460	426	1777	2323
M2	4811	606	2098	2353

TRATAMIENTO 3: C+BC+Compost+Z			Zn	
	Valor Máximo (mg kg ⁻¹)	Valor Mínimo (mg kg ⁻¹)	Media (mg kg ⁻¹)	Desviación estandar
Mo	1790	1521	1685	144
M1	503	337	419	83,2
M2	1473	892	1160	293

TRATAMIENTO 1: C+BC+Z			As	
	Valor Máximo (mg kg ⁻¹)	Valor Mínimo (mg kg ⁻¹)	Media (mg kg ⁻¹)	Desviación estandar
Mo	131	112	120	10,4
M1	58,6	36,2	49,3	11,7
M2	83,0	61,0	72,5	11,0

TRATAMIENTO 2: C+Compost+Z			As	
	Valor Máximo (mg kg ⁻¹)	Valor Mínimo (mg kg ⁻¹)	Media (mg kg ⁻¹)	Desviación estandar
Mo	121	104	111	9,3
M1	58,8	33,2	42,1	14,5
M2	78,6	46,1	63,4	16,3

TRATAMIENTO 3: C+BC+Compost+Z			As	
	Valor Máximo (mg kg ⁻¹)	Valor Mínimo (mg kg ⁻¹)	Media (mg kg ⁻¹)	Desviación estandar
Mo	166	115	142	25,9
M1	37,0	19,5	30,9	9,8
M2	118	54,7	85,1	31,6

TRATAMIENTO 1: C+BC+Z			Pb	
	Valor Máximo (mg kg ⁻¹)	Valor Mínimo (mg kg ⁻¹)	Media (mg kg ⁻¹)	Desviación estandar
Mo	1103	580	775	286
M1	572	258	400	159
M2	996	433	786	308

TRATAMIENTO 2: C+Compost+Z			Pb	
	Valor Máximo (mg kg ⁻¹)	Valor Mínimo (mg kg ⁻¹)	Media (mg kg ⁻¹)	Desviación estandar
Mo	703	466	553	131
M1	388	221	283	92,1
M2	756	491	625	133

TRATAMIENTO 3: C+BC+Compost+Z			Pb	
	Valor Máximo (mg kg ⁻¹)	Valor Mínimo (mg kg ⁻¹)	Media (mg kg ⁻¹)	Desviación estandar
Mo	1532	544	1011	496
M1	297	211	240	49,8
M2	1036	850	921	101

Dependiendo la posición geográfica, la diversidad de los suelos y sus propiedades, podemos encontrar diversidades de niveles genéricos de referencia en distintas normativas y publicaciones. En la Tabla 7 se puede apreciar un resumen de niveles genéricos de referencia en suelos para Zn y Pb, planteada por Brizuela y Jiménez (2012) en su trabajo *“Metodologías aplicadas para el establecimiento de los niveles de referencia para metales pesados en la evaluación de la contaminación en suelos”*, donde hace referencia a los niveles de referencia utilizados en diferentes países y algunas provincias de España. En la Tabla 8 se muestra el nivel genérico de referencia para el Arsénico, propuesto por Martínez y Pérez (2007) en su trabajo *“Niveles de fondo y niveles genéricos de referencia de metales pesados en suelos de la Región de Murcia”*.

En general, los contenidos totales de Zn y Pb obtenidos superan significativamente los máximos niveles estipulados en los distintos países, y en específico, de Murcia, lo que hace evidente los altos contenidos de metales totales en el suelo y que cree un riesgo para el medio ambiente y la cadena trófica.

Por otra parte, para el As se tomó como referencia los niveles genéricos para la Región de Murcia (Tabla 8) donde a excepción del muestreo 1; los tres tipos de tratamientos no exceden los límites máximos permisible, todos los demás se encuentra por encima de los niveles de referencia establecidos por Martínez y Pérez (2007) para la zona de Murcia.

Tabla 7. Niveles de referencias propuestos por agencias y por diferentes legislaciones en varios países y provincias de España para los metales pesados de Zn y Pb ($mg\ kg^{-1}$ suelo).

Países	Zn	Pb
Normativa Suiza	200	50
IHOBE-País vasco ⁽¹⁾	110	45
USEPA-Estados Unidos ⁽²⁾	-	100
CETESB-Brasil ⁽³⁾	60	20
Tabla holandesa	140	85
UE (máximo)	300	300
Austria	300	100
Canadá	400	200
Polonia	300	100
Japón	250	400
Gran Bretaña	300	100
Alemania	600	1000
China	117,6	37,5
South Hydereabad - India	71	20
Holanda, valor de referencia	140	85
Holanda, valor de urgente intervención	720	530
Málaga - España	132	69
Granada - España	76	36
Madrid - España	109	88
Medina del campo Valladolid - España	33,44	13,78
Almería - España ⁽⁴⁾	46,3	-
Castellon - España ⁽⁵⁾	74	23,4
Alicante - España ⁽⁶⁾	83	28
Alicante - España ⁽⁷⁾	91	28
Murcia - España ⁽⁸⁾	66	14

Tabla 8. Nivel genérico de referencia para el As en la Región de Murcia.

NIVELES GENÉRICOS DE REFERENCIAS EN LA REGIÓN DE MURCIA				
Media + 2* desviación estándar por grupos mineralógicos				
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Arsénico	56,57	25,57	10,37	18,76

4.1.3 Concentraciones intercambiables de metal/oide

En las Tablas 9,10 y 11 se pueden observar los contenidos intercambiables de Zn, As y Pb, donde es posible observar si los efectos de las enmiendas producen una retención de los metales/oides, disminuyendo la movilidad de dichos elementos.

Antes de incorporar las enmiendas, tanto para el Zn y Pb como para el As, se observan las mayores concentraciones de metales/oides, esto es debido a la falta de enmiendas y plantación de las especies vegetales para retener esos metales, ya sea en las raíces de las plantas o en la propia enmienda.

Después de incorporar las enmiendas en las parcelas que llevan los tratamientos 1, 2 y 3, se logra una reducción general de los metales/oides intercambiables. Inicialmente se observan valores medios de Zn en los diferentes tratamientos de 933 mg kg^{-1} , 1834 mg kg^{-1} y 885 mg kg^{-1} , respectivamente y, en el último muestreo, se consigue una reducción considerable en sus concentraciones de un 99,65%, 99,45% y 99,93% en los distintos tratamientos (Tabla 9), quedando los metales retenidos en los carbonatos de la propia enmienda o en la materia orgánica aportada por la misma, logrando reducir la movilidad del metal.

El Zn es que representa las mayores concentraciones intercambiables retenidas en el suelo. Este mismo resultado fue observado por (Ramos-Gómez *et al.*, 2012) donde observó que los metales más susceptibles a movilizarse en sus tres lugares de ensayos fue el Zn. El mejor tratamiento que funcionó para su inmovilización fue la combinación de caliza, biochar, compost y zeolita (tratamiento 3), ya que se observa una reducción mayor del elemento (99,93%) y el menos favorable la combinación de caliza, compost y zeolita (tratamiento 2) porque presenta la menor reducción del elemento (99,45%). Se observa que la diferencia entre estos dos tipos de tratamiento es que en el que mejor funciona, se le ha incorporado el biochar y demuestra que esto se debe a los efectos causados por aplicación del mismo, ya que con respecto al compost utilizado en el tratamiento 2, los efectos fueron desfavorables, haciendo que el metal sea más móvil. Se observados resultados con la misma similitud por Yang *et al.* (2016) donde establecía que el biochar es adecuado como absorbente para contaminantes del suelo con metales pesados, lo cual hace que se reduzca la disponibilidad de los metales pesados. Parra Torres (2015) plantea que la caliza es rica en carbonatos y considerada como un material alcalino, donde se utiliza para mejorar las condiciones ácidas e inmovilizar los metales provocando que la toxicidad de los metales se suavice. También Ciccu *et al.* (2003) plantea que debido a su composición de aproximadamente el 97% de carbonatos, es posible recuperar las áreas que han sido degradadas por actividades mineras, ya que los carbonatos son capaces de oxidar los sulfuros, neutralizar la acidez, retener metales e incrementar el pH del suelo. A su vez, la zeolita favorece la reducción

de disponibilidad del metal. Madrid *et al.* (2002) menciona que el uso de la zeolita hace que la disponibilidad del Zn y Pb disminuya cuando se tratan suelos con esta enmienda.

En el caso del As no ocurre lo mismo en los tres tratamientos. Se ha observado que estas reducciones solo es posible en el tratamiento 1 (90,62%), ya que en los tratamientos 2 y 3 tiende a aumentar las concentraciones intercambiables a un 37,96% y 68,20%, respectivamente (Tabla 10). Se puede observar que estos incrementos son debido al efecto que causa el compost en la adición de las enmiendas al suelo, ya que este genera un estado que hace que el As que se encuentra en dicho suelo se haga más disponible.

Para el As, el tratamiento que mejor funcionó fue la combinación de caliza, biochar y zeolita (tratamiento 1) ya que esta combinación logra una reducción del 90,62%. La combinación de caliza, compost, zeolita (tratamiento 2) y la combinación de caliza, biochar, compost y zeolita (tratamiento 3) favorecen la movilidad del metal. En varios estudios el uso del compost ha tenido contradicciones entre los metales/oídos, sobre todo en el arsénico (Hartley *et al.*, 2009b). Por un lado Tandy *et al.* (2009) afirma que se presenta una disminución de la lixiviación de arsénico en el suelo al añadir compost procedente de residuos vegetales y por otro lado, dicho uso de esta enmienda aumenta su movilización (Hartley *et al.*, 2009a, Hartley *et al.*, 2009b, Mench *et al.*, 2003), que es lo que ocurre en las observaciones realizadas en este estudio. También otro estudio realizado por Cárcamo Azócar (2010) concluye con que la zeolita fue efectiva en disminuir la concentración total disuelta de As, lo que también es favorable ya que la zeolita tiene propiedades intrínseca como intercambiador de nutrientes entre el suelo y la planta.

Por otro lado, se observan reducciones en las concentraciones intercambiables de Pb del 99% para los tres tratamientos (Tabla 11) una vez incorporadas las enmiendas al suelo logrando reducir la movilidad del elemento.

Por su parte, Ramos-Gómez *et al.* (2012) mencionan que el Pb, después del Zn, es el metal más susceptible a moverse. En este caso dicho metal presenta concentraciones significativas mayores que el As, logrando liberar dicho metal del suelo para retenerlos en las enmiendas (carbonatos y materia orgánica). Según observamos, este metal logra inmovilizarse mejor con la combinación de caliza, biochar, compost y zeolita (tratamiento 3) y peor con la combinación de caliza, biochar y zeolita (tratamiento 1). En este trabajo vemos que la influencia del biochar presentó reducciones mayores a la influencia del compost, por lo tanto, el uso del biochar no tuvo efecto significativo para lograr inmovilizar el Pb. Lebrun *et al.* (2019) obtuvieron resultados similares acerca del uso del biochar junto con el compost, donde observaron que esta combinación mejora la fertilidad del suelo; reduce la acidez, la movilidad de los metales/oídos

y la toxicidad, pero la aplicación del compost solo tuvo una mayor disminución de concentraciones de Pb.

Tabla 9. Concentraciones intercambiables de Zn en los tratamientos 1 (T1), tratamiento 2 (T2) y tratamiento 3 (T3).

Zn											
	Mues treo	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desvi. Estandar	Mues treo	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desv. Estandar	Mues treo	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desv. Estandar	Efecto de las enmiendas (%)	
T1	Mo	933	220	M1	3,3	0,0	M2	1,3	0,6	99,65%	Reducción
T2	Mo	1834	1081	M1	10,1	13,6	M2	4,2	3,0	99,45%	Reducción
T3	Mo	885	259	M1	0,6	0,0	M2	0,8	0,1	99,93%	Reducción
Controles		1603	902		1468	795		513	302		

Tabla 10. Concentraciones intercambiables de As en los tratamientos 1 (T1), tratamiento 2 (T2) y tratamiento 3 (T3).

As											
	Mues treo	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desv. Estandar	Mues treo	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desv. Estandar	Mues treo	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desv. Estandar	Efecto de las enmiendas (%)	
T1	Mo	0,10	0,11	M1	0,01	0,00	M2	0,04	0,01	90,62%	Reducción
T2	Mo	0,09	0,10	M1	0,13	0,09	M2	0,18	0,04	-37,96%	Aumento
T3	Mo	0,05	0,02	M1	0,09	0,06	M2	0,08	0,04	-68,20%	Aumento
Controles		0,12	0,06		0,12	0,04		0,11	0,07		

Tabla 11. Concentraciones intercambiables de Pb en los tratamientos 1 (T1), tratamiento 2 (T2) y tratamiento 3 (T3).

Pb											
	Mues treo	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desv. Estandar	Mues treo	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desv. Estandar	Mues treo	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desvi. Estandar	Efecto de las enmiendas (%)	
T1	Mo	22,96	11,32	M1	0,10	0,09	M2	0,37	0,11	99,58%	Reducción
T2	Mo	16,96	6,41	M1	0,10	0,11	M2	0,34	0,04	99,38%	Reducción
T3	Mo	18,57	13,11	M1	0,06	0,06	M2	0,29	0,03	99,67%	Reducción
Controles		11,69	9,03		11,68	8,51		4,78	6,14		

En la Tabla 12 se presentan los resultados de las correlaciones existentes entre las propiedades del suelo y los metales/oídos intercambiables, donde se puede observar que el pH no muestra correlación con el As (<0,05) pero si con el Zn y Pb, comprobando que a medida que el pH aumenta, el Zn y el Pb disminuyen y viceversa. La conductividad eléctrica aumenta según se incrementan los contenidos intercambiables de Zn, As y Pb. A su vez, dichos contenidos disminuyen al aumentar el carbono inorgánico. Pero por otra parte, se observa que el As aumenta si el carbono orgánico aumenta, lo que no ocurre con el Zn y el Pb, ya que disminuyen cuando el carbono orgánico aumenta y viceversa.

Tabla 12. Correlación entre las propiedades del suelo y los metales intercambiables.

Parámetros	Propiedades del suelo				Metales intercambiables		
	pH	CE	CI	CO	Zn ($mg\ kg^{-1}$)	As ($mg\ kg^{-1}$)	Pb ($mg\ kg^{-1}$)
pH	1						
CE	-0,471	1					
CI	0,966	-0,433	1				
CO	0,846	-0,126	0,833	1			
Zn ($mg\ /kg$)	-0,665	0,251	-0,727	-0,640	1		
As ($mg\ /kg$)	0,004	0,349	-0,093	0,123	0,355	1	
Pb ($mg\ /kg$)	-0,796	0,271	-0,805	-0,709	0,739	0,199	1

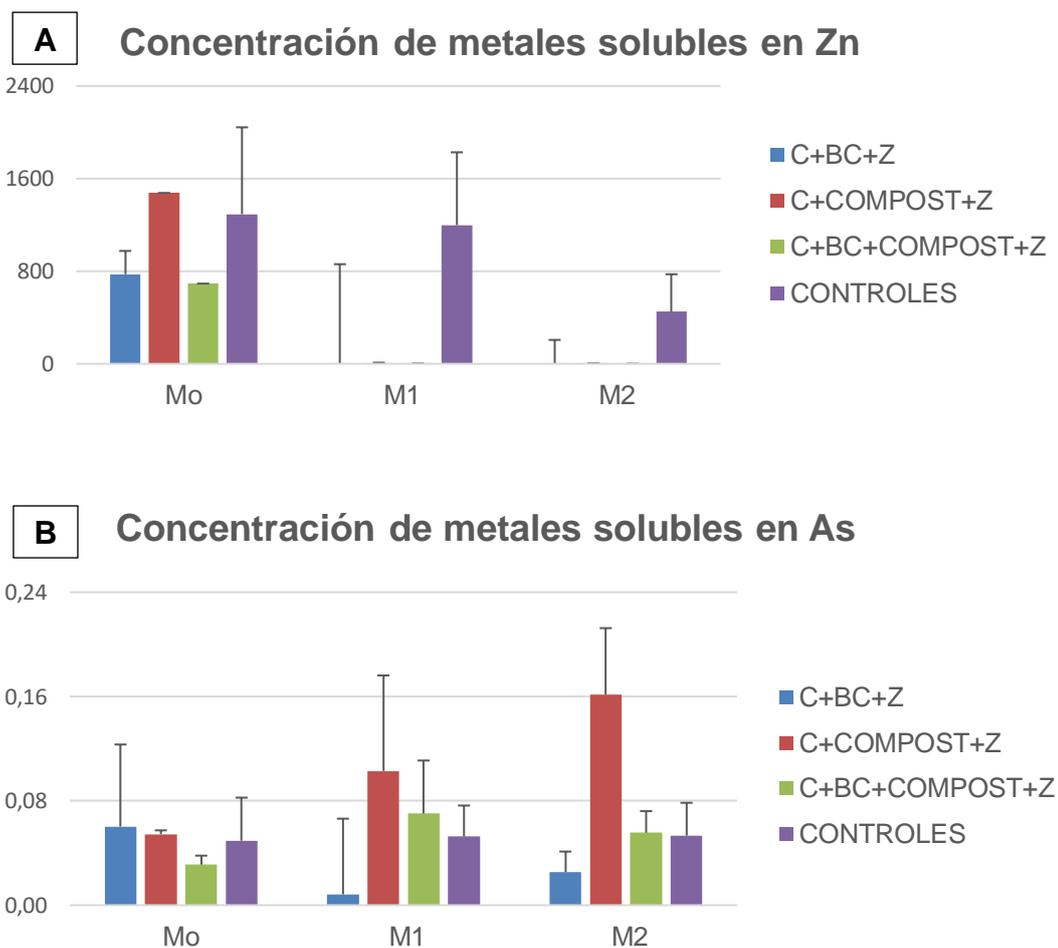
Quando los valores son $< 0,05$, no hay correlación entre los parámetros.

Quando los valores son positivos, si un parámetro aumenta, el otro también.

Quando los valores son negativos, Si un parámetro aumenta, el otro disminuye y viceversa.

4.1.4 Concentraciones solubles de metales/oideas

En la Figura 16 se muestra las concentraciones de Zn, As y Pb solubles correspondientes a los diferentes muestreos y tratamientos.



C Concentración de metales solubles en Pb

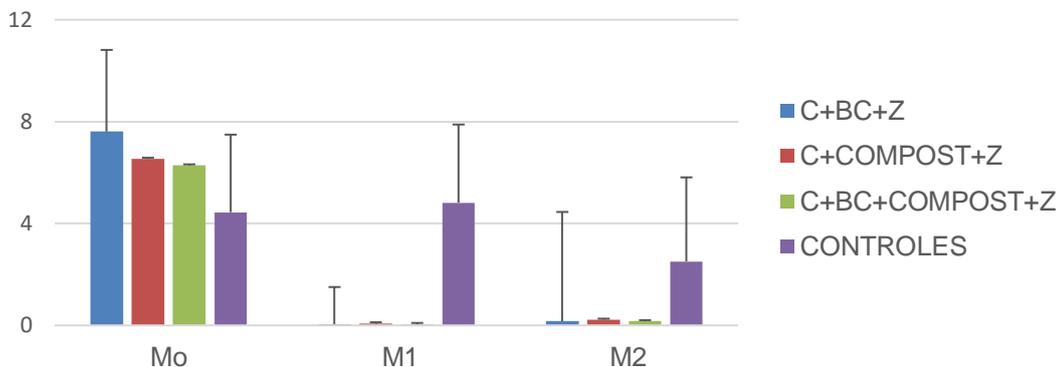


Figura 16. Concentraciones solubles de Zn, As y Pb.

Las mayores concentraciones de metales solubles que se obtuvieron fueron de Zn (Figura 16A). Con el tratamiento 1 (combinación de caliza, biochar y zeolita) se observó que el 31% del Zn total se podía solubilizar. Para evaluar el efecto del compost, sobre estas parcelas de ensayo se aplicó un segundo tratamiento, combinación de caliza, compost y zeolita, donde se ha podido mostrar una mayor solubilización del metal, 40,6% del Zn total. Un tercer tratamiento combinando biochar, compost y zeolita, demostró resultados muy similares al tratamiento anterior, 41,1% de Zn soluble respecto al total.

Németh *et al.* (1996) plantea que en los suelos ácidos los metales se puede movilizar y haciendo que una parte de ellos pase a forma solubles.

Por otra parte se ha observado una tendencia a aumentar ligeramente las concentraciones solubles de As (Figura 16B), en especial con la aplicación del tratamiento 2; combinación de caliza, compost y zeolita. Galán y Romero (2008) plantean que esto se debe a que el metaloide As se encuentra disponible a pH alcalino, lo cual tiende a aumentar las concentraciones a medida que el pH aumenta. Resultados similares han sido planteados por Xie y Naidu (2006), donde han observado que en suelos básicos con buena aireación, la solubilidad del As puede estar limitada por su precipitación como arseniatos de Ca o Fe, donde los carbonatos pueden jugar un papel importante en la retención del arseniato debido a pH altos en los suelos (Zhang y Selim, 2008). Un estudio realizado por Fernández del Baño (2013) concluye con que en los suelos que se encuentran en condiciones ácidas, la movilidad del As es mucho menor, haciendo que este suela ser bastante estable. Este metaloide tuvo mejores resultados con la combinación de caliza, biochar y zeolita (tratamiento 1) y peores resultados con la aplicación del compost a la hora de combinarlo con caliza y zeolita.

Es importante destacar que se presentaron varios eventos de lluvias fuertes en los meses siguientes luego de la incorporación de las enmiendas y haberse llevado a cabo el muestreo (M1) en fecha 4 de marzo 2019, donde según la fuente meteorológica conocida como “meteomurcia” informa que para el mes de abril la precipitación fue de 124.6 mm. Esto pudo solubilizar el As, por lo tanto puede explicar el ligero aumento en las concentraciones que se presentaron dos meses después de la incorporación de las enmiendas (M2), en comparación a las concentraciones encontradas una vez aplicada las enmiendas al suelo (M1).

La fracción soluble de Pb (Figura 16C) presenta concentraciones que no sobrepasan ni el 2% del contenido total de forma soluble. Esto quiere decir que la mayor parte del Pb no pasó a la parte soluble, debido a que no hubo una disolución considerada de Pb en el suelo. Basta *et al.* (2004) y Cao *et al.* (2002) plantean que a menor pH en el suelo, más fácil sería la disolución del Pb en el suelo, y que la inmovilización in situ del mismo requiere de la solubilidad realizada del Pb induciendo condiciones ácidas. Debido a esto observamos concentraciones mayores de Pb antes de incrementar el pH del suelo con las incorporaciones de las enmiendas.

Resultados similares fueron observados por Valles y Alarcón (2008), donde estudiaron la estabilización química de suelos contaminados con metales pesados y metaloides (Zn, As y Pb) y observaron que la solubilidad de los mismos fueron disminuidas considerablemente.

4.2 Dinámica de metales en el sistema suelo-planta

Las concentraciones de metales totales en plantas se muestran en las tablas 12 y 13. En ella se observa que los metales que mayor concentración presentan en raíz y tallo son el Zn y el Pb tanto en *Piptatherum miliaceum*, como en *Coronilla juncea*. Si comparamos la concentración de metales entre ambas especies de plantas vemos que la mayor concentración de metales la presenta *Piptatherum Miliaceum*.

Tabla 13. Concentraciones de metales totales en planta *Piptatherum miliaceum*.

TRATAMIENTOS	PARTE	PIPTATHERUM MILIACEUM					
		Zn		As		Pb	
		Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desviación	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desviación	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desviación
C+Bc+Z	RAIZ	536	212	14,2	6,7	205	128
	TALLO	291	108	2,3	0,9	47,9	16
C+Comp+Z	RAIZ	341	84,8	3,5	2,8	61,3	34
	TALLO	389	214	6,7	7,6	119	108
C+Bc+Comp+Z	RAIZ	388	45,1	5,9	1,0	106	17
	TALLO	269	5,6	1,9	0,4	41,8	8

Tabla 14. Concentraciones de metales totales en planta *Coronilla juncea*.

TRATAMIENTOS	PARTE	CORONILLA JUNCEA					
		Zn		As		Pb	
		Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desviación	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desviación	Valor medio (mg kg ⁻¹)	Desviación
C+Bc+Z	RAIZ	177	63,7	1,7	0,6	40,6	21,6
	TALLO	329	76,6	1,8	0,3	49,0	14,2
C+Comp+Z	RAIZ	76,1	132	0,6	1,1	12,7	22,0
	TALLO	178	308	0,6	1,0	14,6	25,3
C+Bc+Comp+Z	RAIZ	247	226	1,5	1,4	29,9	27,1
	TALLO	185	206	1,4	1,3	27,6	29,9

Para determinar si estas dos plantas cumplen con el objetivo de este trabajo, de ver cómo se comporta la movilidad y translocación de metales pesados desde el suelo a la planta, para así comprobar si la planta es fitoextractora o fitoestabilizadora (Medina Marcos *et al.*, 2014), se estudiaron el factor de bioacumulación (BAF) y el factor de traslocación (TF).

Se observa que tanto para la planta *Piptatherum miliaceum* como *Coronilla juncea*, los factores de bioacumulación para los metales/oideas Zn, As y Pb son menores a 1 (figura 19), lo que significa que la planta no se considera acumuladora del metal/oide (Baker, 1981; M a, 2001).

Aunque en este estudio se observa que la especie *Piptatherum miliaceum* no se considera acumuladora, diversos estudios afirman que dicha planta puede acumular metales/oideas en sus raíces, ya que presentan factores de acumulación mayores a la unidad. Unos de estos estudios fue llevado a cabo por Martínez-Martínez *et al.* (2019) donde observaron que la especie *Piptatherum miliaceum* es acumuladora de metal/oide en la raíz, ya que el factor de acumulación superó la unidad. Otro estudio realizado por Gonzalez-Fernandez *et al.* (2011) observaron que la especie *Piptatherum miliaceum* exhibió un mayor grado de acumulación de los metales/oideas que estudiaron (Zn, As y Pb), pudiendo acumular en el caso del Pb hasta casi 20% del contenido total presente en el suelo rizosférico. Resultados similares fueron observados por Garcia *et al.* (2004), que estudió las concentraciones de metal de Zn y Pb en raíz y tallo para la especie *Piptatherum miliaceum*, y observó que se almacenaba menos metal en las hojas y tallos que en la raíz.

En este caso, debido al corto periodo de tiempo entre la plantación y la toma de muestra, no ha dado tiempo a que la planta extraiga metal/oide como para que se pueda calificar de acumuladora, pero se observa una cierta tendencia a la mayor acumulación de metales/oideas en la raíz de *Piptatherum miliaceum* en los tratamientos 1 y 3 y una mayor acumulación en tallo para el tratamiento 2.

Por otra parte, en este estudio la combinación de las enmiendas utilizadas en el tratamiento 2 (C+Compost+Z) es desfavorable respecto a los tratamientos

1 (C+Bc+Z) y 3 (C+Bc+Compost+Z), ya que muestra mayores concentraciones de metales/oídos de Zn, As y Pb en el tallo que en la raíz, lo que da lugar a mayor contenido de metales en la parte aérea, resultando no conveniente para la fitoestabilización del suelo minero.

En *Coronilla juncea* ocurre lo mismo, aunque no se constata una acumulación de metales que permita calificarla como acumuladora, sí que se observa una cierta tendencia a la mayor acumulación en los tallos. Sin embargo, en ambos casos habría que esperar a un mayor desarrollo vegetativo de los ejemplares de estas dos especies para corroborar estas tendencias observadas.

Heckenroth *et al.* (2016) encontraron resultados donde sugirieron que la planta *Coronilla juncea* podría ser tolerante a altas concentraciones de metales pesados y concluyeron con que dicha planta podría utilizarse para fines de fitoestabilización en áreas mediterráneas contaminadas.

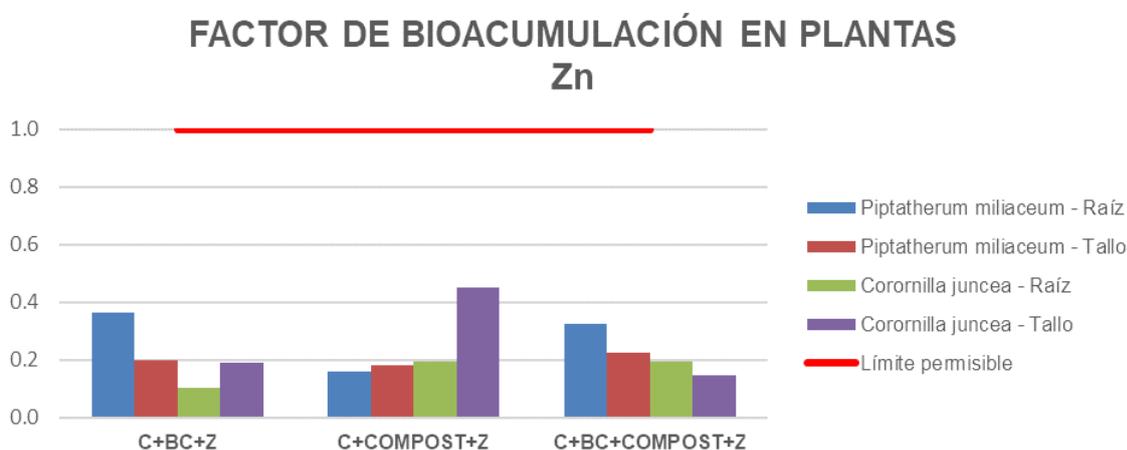


Figura 17. Factor de bioacumulación de zinc en plantas.

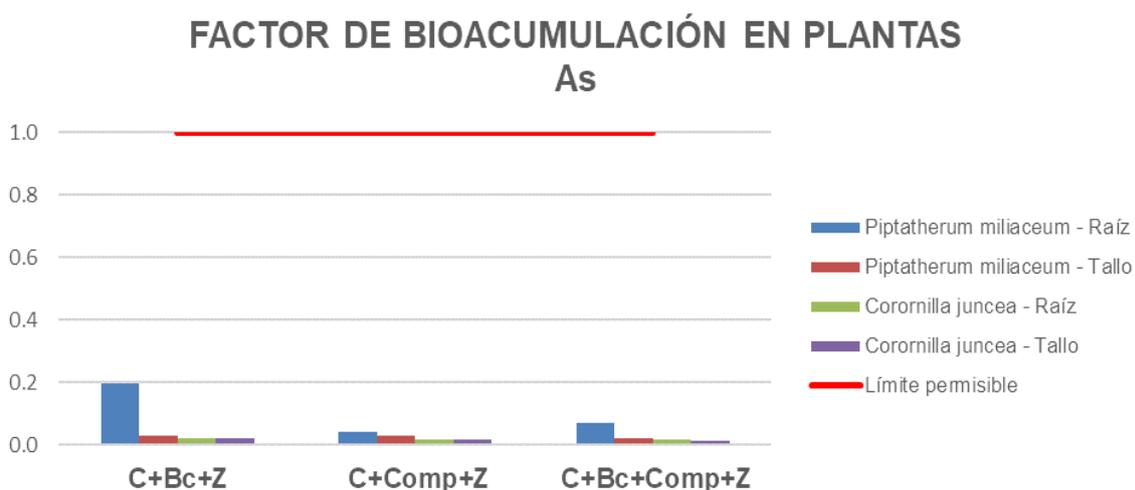


Figura 18. Factor de bioacumulación de arsénico en plantas.

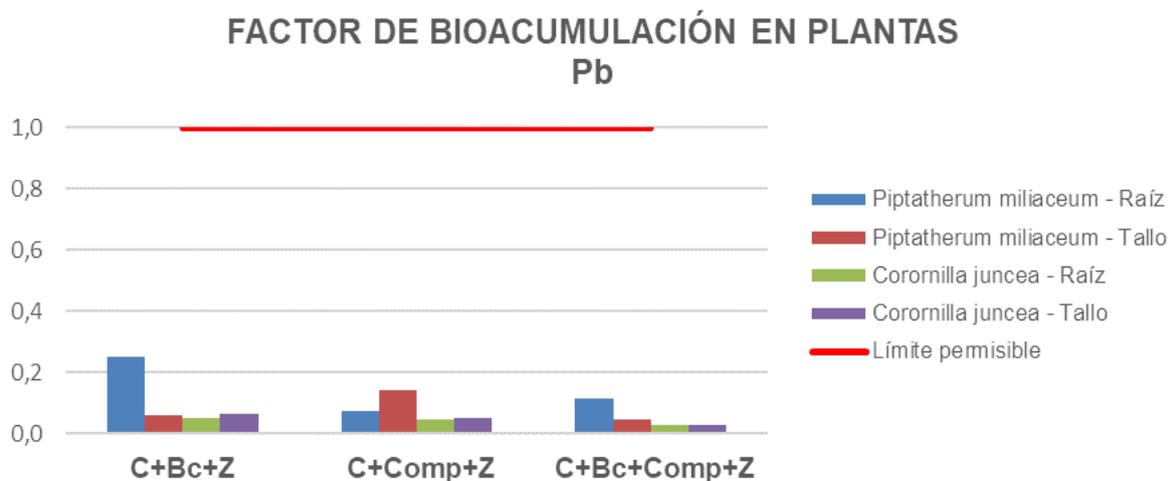


Figura 19. Factor de bioacumulación de plomo en plantas.

Se puede notar que con las enmiendas aplicadas en el tratamiento 2 (C+Compost+Z), la planta *Piptatherum miliaceum* traslada los metales pesados de la raíz a la parte aérea de la planta (figura 22), ya que los factores de traslocación supera la unidad (Baker y Brooks, 1989), lo que significa que esta mezcla de enmiendas no favorece la estabilización de los metales en el suelo, aumentando la probabilidad de transferencia de As y Pb a la cadena trófica.

Las parcelas que se le aplicaron las enmiendas del tratamiento 1 (C+Bc+Z) y 3 (C+Bc+Comp+Z), la planta *Piptatherum miliaceum* se considera que fitoestabiliza los metales en sus raíces ya que los factores de traslocación son menores a 1, lo que significa que no traslada los metales de la raíz a la parte aérea de la planta (Baker y Brooks, 1989).

Este efecto puede deberse a la incorporación de biochar, ya que aparte de mejorar la estructura del suelo, puede incrementar su consistencia y prevenir lixiviación del metal (Gómez *et al.*, 2017).

Por otra parte, para la planta *Coronilla juncea*, al aplicarse los tratamientos 1 (C+Bc+Z) y 2 (C+Comp+Z), el Zn y en menor medida el Pb, son trasladados desde la raíz a la parte aérea, ya que los factores encontrados son mayores a 1. Con el tratamiento 3 (C+Bc+Comp+Z), se observa que la planta si cumple fitoestabilizar Zn, Pb y As en sus raíces, ya que, con estas enmiendas, los factores de traslocación no supera la unidad y los metales no son trasladados desde la raíz a la planta (Baker y Brooks, 1989).

Esta influencia de los diferentes tratamientos sobre la planta se debe a la combinación del biochar y el compost. Beesley *et al.* (2014) estudiaron los efectos de estas combinaciones en suelos contaminados con metales y arsénico,

donde comprobaron que para el As las enmiendas provocaron una solubilización del mismo, el cual fue sustentado debido al aumento de carbono orgánico disuelto proporcionado por el compost y biochar, contribuyendo a la formación de la materia orgánica y haciendo que el As quede retenido en ella.

Otros estudios se realizaron por Forján *et al.* (2016) en el cual iban a comprobar el efecto del biochar con el compost en la retención de metales en el suelo contaminado, donde tuvieron resultados similares a este estudio y los mismos mostraron que la mezcla de biochar y compost fue efectiva para la retención del Zn y el Pb.

En estos resultados se observa que el papel de la zeolita sobre la planta prácticamente no modifica ningún parámetro medido, ya que a los tres tipos de tratamiento se le incorporaron la zeolita como enmienda y solo se ven diferencia cuando se trata de combinar el biochar y el compost con la zeolita. Esto refleja un gran papel ejercido directamente por el biochar y el compost. Leggo (2006) plantea algo similar, donde dice que el uso de la zeolita no altera las propiedades físicas del suelo, solo la capacidad de intercambio iónico, lo cual se ve ciertas relaciones con el estudio llevado a cabo por Moirou *et al.* (2001) donde plantean que la inmovilización de los metales, principalmente el Pb, se atribuía esencialmente a las reacciones de intercambio iónico, por lo que puede producirse una inmovilización del Pb al aplicar esta enmienda. Mahabadi *et al.* (2007) estudió la zeolita como enmienda y tuvo como resultado que la concentración iónica de los metales disminuyó fuertemente después de la aplicación de la zeolita, lo que podría explicar la reducción en la absorción de metal observada en este estudio y la incrementación de pH, ya que la aplicación de esta enmienda eleva dicho pH del suelo, inhibiendo efectivamente la lixiviación.

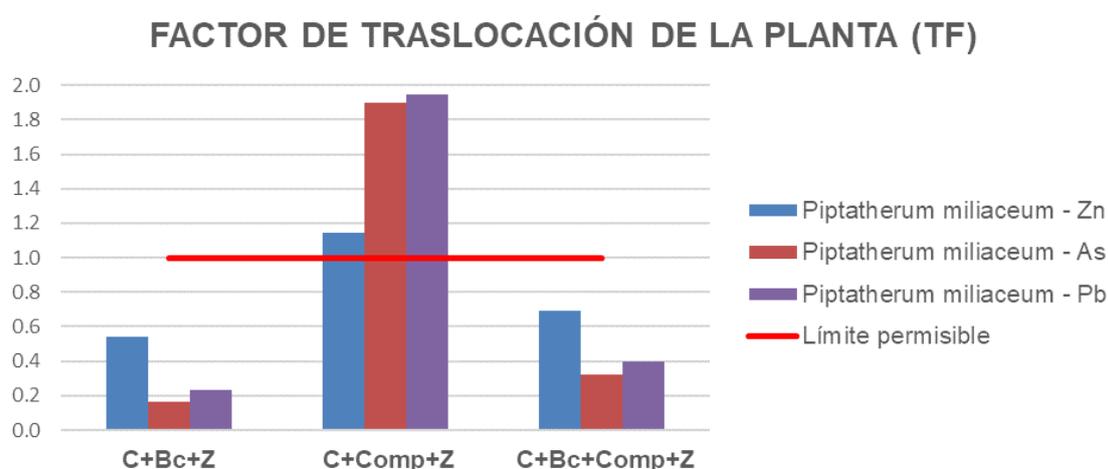


Figura 20. Factor de traslocación en la planta *Piptatherum miliaceum*.

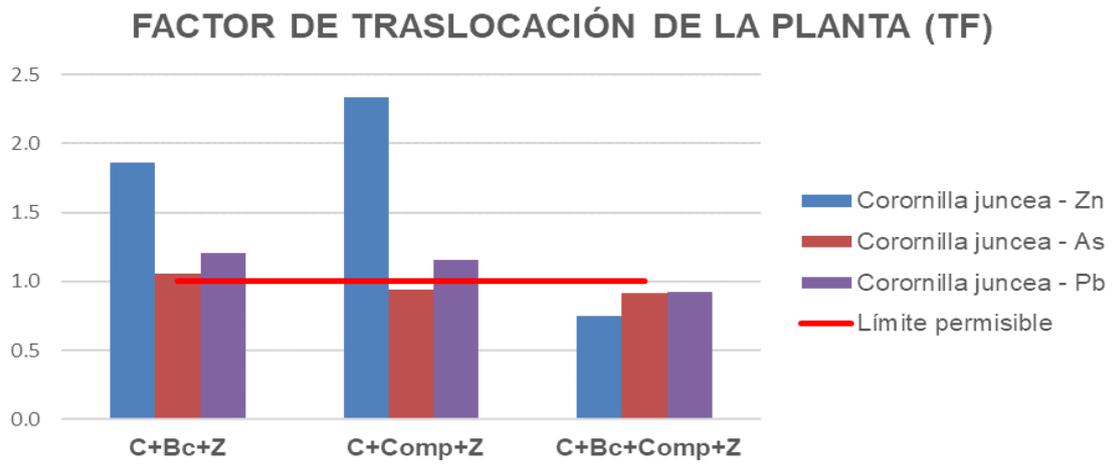


Figura 21. Factor de traslocación en la planta *Coronilla juncea*.

5. CONCLUSIONES

Las propiedades del suelo se mejoraron una vez incorporadas las enmiendas orgánicas e inorgánicas al depósito minero, disminuyendo la acidez y el contenido de sales de los residuos mineros, e incrementándose los contenidos de carbono orgánico e inorgánico, teniendo gran impacto en la formación de la materia elaborada de compuestos orgánicos en el suelo.

La aplicación de la técnica de fitoestabilización asistida en las parcelas de ensayo adicionando distintas enmiendas permitió conocer la más conveniente para disminuir los contenidos de metales/oides intercambiables y, por consiguiente, favorecer la reducción de los riesgos medioambientales que los metales/oides pueden desencadenar en estos ambientes mineros. Con la ayuda de esta, el tratamiento que mejor ha funcionado ha sido la combinación de caliza, biochar, compost y zeolita, permitiendo mayores reducciones de las concentraciones intercambiables en el suelo.

La zeolita no tuvo grandes efectos en el suelo en comparación con la caliza, el biochar y el compost, por lo que se requiere estudios más amplios de la misma para comprobar los resultados de este estudio y de varios autores citados en la sustentación de los resultados obtenidos.

Es idóneo utilizar la especie *Piptatherum milliaceum* para acumular metales/oides, debido a que en este estudio la funcionalidad de esta planta alcanzó los mejores resultados en combinación con el tratamiento más favorable (tratamiento 3), mostrando mayor disponibilidad de metales/oides en la raíz y no en el tallo, e impidiendo la movilidad de estos a la parte aérea, garantizando el éxito de la fitoestabilización asistida.

Es necesario profundizar más con la especie *Coronilla juncea*, para evaluar el contenido de nitrógeno aportado por la misma al suelo y verificar si dicha aportación ayuda a que la especie se desarrolle mejor a corto o largo plazo. Por otro lado, en este estudio esta planta se considera desfavorable para la fitoestabilización asistida, ya que la mayor acumulación de metales/oides se muestran en los tallos, causando la movilidad de dichos metales/oides a la parte aérea.

Por último, para evaluar la evolución de las propiedades del suelo y la movilidad de metales pesados se recomienda continuar monitoreando a largo plazo estas parcelas, e incluso, testar otras especies vegetales que puedan contribuir a la reducción de los riesgos ambientales y a la protección de la salud humana frente a los efectos nocivos causados por los altos niveles de contaminación que presentan los suelos explotados por actividad minera.

6. REFERENCIAS

- ACOSTA AVILÉS, J. A., CARMONA GARCÉS, D. M., FAZ CANO, A., GABARRON SÁNCHEZ, M., GÓMEZ GARRIDO, M., MARTÍNEZ MARTÍNEZ, S., MORENO CORNEJO, J., MUÑOZ GARCÍA, M. A., ROSALES ARANDA, R. M., SORIANO DISLA, J. M., TERRERO TURBÍ, M. A. & ZORNOZA BELMONTE, R. 2018. *Métodos de análisis de suelos*.
- AGUDELO, L., MACÍAS, K. & SUÁREZ, A. 2005. Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos. *Revista Lasallista de investigación*, 2(001), 57-60.
- ARIAS, J. A. V. 2017. Contaminación de suelos y aguas por hidrocarburos en Colombia. Análisis de la fitorremediación como estrategia biotecnológica de recuperación. *RIAA*, 8, 151-167.
- BAKER, A. J. M. 1981. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to trace metals. *Journal of Plant Nutrition*, 3, 643-54.
- BAKER, A. J. M. & BROOKS, R. R. 1989. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements – a review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1, 811-826.
- BAKER, A. J. M. & WALKER, P. L. 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. *Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects*. Shaw, A.J., (ed.) ed. CRC Press, Boca Raton.
- BARCELÓ, J. & POSCHENRIEDER, C. 2003. Phytoremediation: principles and perspectives. *Contributions to Science*, 2, 333-334.
- BASTA, N. & MCGOWEN, S. 2004. Evaluation of chemical immobilization treatments for reducing heavy metal transport in a smelter-contaminated soil. *Environmental Pollution*, 127, 73-82.
- BEESLEY, L., INNEH, O. S., NORTON, G. J., MORENO-JIMENEZ, E., PARDO, T., CLEMENTE, R. & C., D. J. J. 2014. Assessing the influence of compost and biochar amendments on the mobility and toxicity of metals and arsenic in a naturally contaminated mine soil. *Environmental Pollution*, 186, 195-202.
- BETANCUR, L. M. A., MAZO, K. I. M. & MENDOZA, A. J. S. 2005. Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos. *Revista Lasallista de investigación*, 2, 57-60.
- BOROS-LAJSZNER, E., WYSZKOWSKA, J. & KUCHARSKI, J. 2018. Use of zeolite to neutralise nickel in a soil environment. *Environmental monitoring and assessment*, 190, 54.
- BRIZUELA, J. & JIMÉNEZ, Y. 2012. Metodologías aplicadas para el establecimiento de los niveles de referencia para metales pesados en la evaluación de la contaminación en suelos. *Avances en Química*, 7, 101-109.
- CÁRCAMO AZÓCAR, V. E. 2010. Evaluación de la eficacia de diferentes enmiendas en la rehabilitación de suelos ácidos y contaminados con metales y metaloides en el Valle del Puchuncaví, Región de Valparaíso.
- CICCU, R., SERCI, A., FADDA, S., PERETTI, R. & ZUCCA, A. 2003. Heavy metal immobilization in the mining-contaminated soils using various industrial wastes. *Minerals Engineering*, 16, 187-192.

- DIEZ LÁZARO, J. 2008. *Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados: evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas*, Univ Santiago de Compostela.
- DOMÍNGUEZ, M. T. 2016. SPA Fitoestabilización de suelos contaminados.
- DOS SANTOS UTMAZIAM, M. N., WIESHAMMER, G., VEGA, R. & WENZEL, W. W. 2007. Hydroponic screening for metal resistance and accumulation of cadmium and zinc in twenty clones of willows and poplars. *Environmental Pollution*, 148, 155-165.
- DOULA, M. K., KAVVADIAS, V. A. & ELAIOPOULOS, K. 2012. Zeolites in soil remediation processes.
- DURÁN CUEVAS, P. 2011. *Transferencia de metales de suelo a planta en áreas mineras: Ejemplos de los Andes peruanos y de la Cordillera Prelitoral Catalana*, Universitat de Barcelona.
- EPA., U. S. E. P. A. 1999. Phytoremediation resource guide. D.C. U.S. Environmental Protection Agency Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation Office.
- ERNEST, W. 1976. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance. *Semin Ser Soc Exp Biol*.
- FERNÁNDEZ DEL BAÑO, I. M. 2013. Factores que afectan a la movilidad del arsénico en los suelos propuesta de protocolo de actuación para valorar la contaminación de suelos por arsénico.
- FIGUEROA, A. A. B. 2014. Fitorremediación en la recuperación de suelos: una visión general. *RIAA*, 5, 245-258.
- FORJÁN, R., ASENCIO, V., RODRIGUEZ-VILA, A. & COVELO, E. F. 2016. Contributions of a compost-biochar mixture to the metal sorption capacity of a mine tailing. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 2595-2602.
- FREIRE, F. 2008. *Técnicas de remediación ambiental de suelos contaminados con hidrocarburos en el área de influencia de operaciones de petroproducción del nororiente ecuatoriano de la piscina Shushufindi 17-1 (PEPDA)*. Universidad Tecnológica Equinoccial.
- GALÁN, E. & ROMERO BAENA, A. J. 2008. Contaminación de suelos por metales pesados. *Macla*, 10, pp. 48-60.
- GARCÍA, G., FAZ, A. & CUNHA, M. 2004. Performance of Piptatherum miliaceum (Smilo grass) in edaphic Pb and Zn phytoremediation over a short growth period. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54, 245-250.
- GARCÍA, R. B. & REYES, A. S. 2009. Fitorremediación de metales pesados y microorganismos. *Revista electrónica de la Agencia de Medio Ambiente*, 1-6.
- GEMMELL, R. P. 1981. The Reclamation of Acidic Colliery Spoil. II. The Use of Lime Wastes. *The Journal of Applied Ecology*, 18, pp. 879-887.
- GÓMEZ OREA, D. 2004. *Recuperación de espacios degradados*.
- GÓMEZ, X., LADD, B., MUÑOZ, A. & DE LA ROSA, R. A. 2017. DETERMINACIÓN DEL EFECTO DEL BIOCARBÓN EN MOVILIDAD DEL MERCURIO EN SISTEMA SUELO-PLANTA. *The Biologist*, 15.
- GONZÁLEZ-CHÁVEZ, M. D. C. Á. 2005. Recuperación de suelos contaminados con metales pesados utilizando plantas y microorganismos rizosféricos. *Terra Latinoamericana*, 23, 29-37.
- GONZALEZ-FERNANDEZ, O., QUERALT, I., CARVALHO, M. L. & GARCIA, G. 2011. Lead, zinc, arsenic and copper pollution in the alluvial plain of a

- mining wadi: The Beal Case (Cartagena–La Union Mining District, SE Spain). *Water, Air, & Soil Pollution*, 220, 279-291.
- GUZMÁN LLOCLLA, M. Y. 2013. Fitoestabilización con (plantas macrofitas) Lemna minor, en las aguas del río chaluaca.
- HARTLEY, W., DICKINSON, N. M., CLEMENTE, R., FRENCH, C., PEARCE, T. G., SPARKE, S. & LEPP, N. W. 2009a. Arsenic stability and mobilization in soil at an amenity grassland overlying chemical waste (St. Helens, UK). *Environmental pollution*, 157, 847-856.
- HARTLEY, W., DICKINSON, N. M., RIBY, P. & LEPP, N. W. 2009b. Arsenic mobility in brownfield soils amended with green waste compost or biochar and planted with Miscanthus. *Environmental Pollution*, 157, 2654-2662.
- HECKENROTH, A., RABIER, J., DUTOIT, T., TORRE, F., PRUDENT, P. & LAFFONT-SCHWOB, I. 2016. Selection of native plants with phytoremediation potential for highly contaminated Mediterranean soil restoration: Tools for a non-destructive and integrative approach. *Journal of environmental management*, 183, 850-863.
- HERNÁNDEZ, G. & DENISSE, C. 2011. *Evaluación del efecto de enmiendas sobre la fitoestabilización de un suelo contaminado por Pb y Zn*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- JAMIL, T. S., IBRAHIM, H. S., EL-MAKSOU, I. A. & EL-WAKEEL, S. 2010. Application of zeolite prepared from Egyptian kaolin for removal of heavy metals: I. Optimum conditions. *Desalination*, 258, 34-40.
- JING, Y., HE, Z. & YANG, X. 2007. Role rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Journal Zhejiang Univ. Sci. B.*, 8, 192-207.
- KHAN, A. G. 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 355-364.
- KIDD, P. S., DIEZ, J. & MONTERROSO, C. 2004. Tolerance and bioaccumulation of heavy metals in *Cistus ladanifer* L. subsp. *ladanifer* and its potencial for phytoextraction. *Plant and Soil*, 258, 189-205.
- KUZOVKINA, Y. A., KNEE, M. & QUIGLEY, M. F. 2004. Cadmium and copper uptake and translocation in five willow (*Salix* L.) species. *International Journal of Phytoremediation*, 6, 269-287.
- LEBRUN, M., MIARD, F., NANDILLON, R., SCIPPA, G. S., BOURGERIE, S. & MORABITO, D. 2019. Biochar effect associated with compost and iron to promote Pb and As soil stabilization and *Salix viminalis* L. growth. *Chemosphere*, 222, 810-822.
- LOCH ARELLANO, B. N. 2017. Evaluación del uso de *Atriplex nummularia* con la aplicación de enmiendas húmicas para la fitoestabilización de relaves mineros.
- LÓPEZ, S., GALLEGOS, M., PÉREZ, L. & GUTIERREZ, M. 2005. Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas. *Rev.Int.Contam.Ambient*, 21 (2), 91-100.
- MADRID, L., DÍAZ BARRIENTOS, E. & MADRID DÍAZ, F. 2002. Efecto de la adición de algunos minerales sobre la disponibilidad de metales pesados en suelos.
- MAHABADI, A. A., HAJABBASI, M., KHADEMI, H. & KAZEMIAN, H. 2007. Soil cadmium stabilization using an Iranian natural zeolite. *Geoderma*, 137, 388-393.

- MARRERO-COTO, J., AMORES-SÁNCHEZ, I. & COTO-PÉREZ, O. 2012. Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento ambiental. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 46, 52-61.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, S. Influencia de la fitoestabilización asistida sobre la fertilidad y movilidad de Pb-Zn en un depósito minero del sureste español. 2014.
- MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, S., ZORNOZA, R., GABARRÓN, M., GÓMEZ-GARRIDO, M., ROSALES, R. M., MUÑOZ, M. A., GÓMEZ-LÓPEZ, M. D., SORIANO-DISLA, J. M., FAZ, A. & ACOSTA, J. A. 2019. Is aided phytostabilization a suitable technique for the remediation of tailings? *European Journal of Soil Science*, 70, 862-875.
- MARTÍNEZ SÁNCHEZ, M. J. & PÉREZ IRVENT, C. 2007. *Niveles de fondo y niveles genéricos de referencia de metales pesados en suelos de la Región de Murcia*.
- 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 rudiocula* Stapf, de áreas contaminadas con el pasivo ambiental minero Alianza-Ancash 2013.
- MENCH, M., BUSSIÈRE, S., BOISSON, J., CASTAING, E., VANGRONSVELD, J., RUTTENS, A., DE KOE, T., BLEEKER, P., ASSUNÇÃO, A. & MANCEAU, A. 2003. Progress in remediation and revegetation of the barren Jales gold mine spoil after in situ treatments. *Plant and soil*, 249, 187-202.
- MENTABERRY, A. 2011. Fitorremediación. *Agrobiotecnología, Universidad de Buenos Aires*.
- MOIROU, A., XENIDIS, A. & PASPALIARIS, I. 2001. Stabilization Pb, Zn, and Cd-contaminated soil by means of natural zeolite. *Soil and Sediment Contamination*, 10, 251-267.
- MOOSAVI, S. G. & SEGHA TOLESLAMI, M. J. 2013. Phytoremediation: A Review. *Adv Agric Bio*. 1, 5-11.
- MORIWAKA, H. & ERKIN, O. C. 2003. Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control. *Chemosphere*, 52, 1553-1558.
- MUDGAL, V., MADAAN, N. & MUDGAL, A. 2010. Heavy Metals in Plants: Phytoremediation: Plants Used to Remediate Heavy Metal Pollution. *Agric Biol J North America* 1, 40-46.
- MUÑOZ CASTELLANOS, L. N., NEVÁREZ MOORILLÓN, G. V., BALLINAS CASARRUBIAS, M. L. & PERALTA PÉREZ, M. R. 2010. Fitorremediación como una alternativa para el tratamiento de suelos contaminados. *Revista Internacional de Ciencia y Tecnología Biomédica*.
- NÉMETH, T., MOLNÁR, E., CSILLAG, J., LUKÁCS, A., BUTJÁS, K. & VAN GENECHTEN, M. T. 1996. Model experimentsto assess the fate of heavy metáis in soils. Biogeochemistry of trace elements. *Aspecial Issue of Environmental Geochemístry and Health* 16, 505-514.
- NÚÑEZ, F. 2002. Evaluación a escala piloto de la fitorremediación de cuerpos de agua empleando caña glauca. *XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Cancún, México*.
- NÚÑEZ, R., MEAS, Y., ORTEGA, R. & OLGUÍN, E. 2004. Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones, Biotecnología y Biología Molecular. *Ciencia*, Julio-septiembre. 69-82.

- OK, Y. S., CHANG, S. X., GAO, B. & CHUNG, H.-J. 2015. SMART biochar technology—a shifting paradigm towards advanced materials and healthcare research. *Environmental Technology & Innovation*, 4, 206-209.
- ORCHARD, C., LEÓN-LOBOS, P. & GINOCCHIO, R. 2009. Fitoestabilización de desechos mineros masivos con recursos fitogenéticos nativos: Potencial para el uso sustentable y la conservación de la flora nativa de la zona centro-norte de Chile. *Ciencia e investigación agraria*, 36, 329-352.
- PAREDES PÁLIZ, K. I. 2017. Fitoestabilización de metales pesados en sedimentos costeros asistida por bacterias rizosféricas.
- PARRA TORRES, A. 2015. Metodología para la valorización paisajista y rehabilitación ambiental de zonas mineras mediante el uso de modelos de ayuda a la toma de decisión.
- PÉREZ-ESTEBAN, J., ESCOLÁSTICO, C., MOLINER, A., MASAGUER, A. & RUIZ-FERNÁNDEZ, J. 2014. Phytostabilization of metals in mine soils using *Brassica juncea* in combination with organic amendments. *Plant and soil*, 377, 97-109.
- PILON-SMITS, E. 2005. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*. 56, 15-39.
- RAMOS-GÓMEZ, M., AVELAR, J., MEDEL-REYES, A., YAMAMOTO, L., GODINEZ, L., RAMIREZ, M., GUERRA, R. & RODRÍGUEZ, F. 2012. Movilidad de metales en jales procedentes del distrito minero de Guanajuato, México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 28, 49-59.
- ROBINSON, B., SCHULIN, R., B., N., S., R., M., M., B., C., S., G. & T., M. 2006. Phytoremediation for the management of metal flux in contaminated site. *Snow Landsc. Res.*, 80, 221-234.
- SALT, D. E. 2000. Phytoremediation: Present Applications and Future Promise. *Biorremediation of contaminated Soils*. Wise, D.L., Trantolo, D.J., Chichon, E.J., Inyang, H.I., Stottmeister, U. (Eds.) ed. New York, U.S: Marcel Dekker, Inc.
- 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.
- SHU, W. S., YEB, Z. H., LANA, C. Y., ZHANGA, Z. Q. & WONGB, M. H. 2002. Lead, zinc and copper accumulation and tolerance in populations of *Paspalum distichum* and *Cynodon dactylon*. *Environmental Pollution*, 120, 445-453.
- SIGUA, G. C., NOVAK, J. M., WATTS, D. W., IPPOLITO, J. A., DUCEY, T. F., JOHNSON, M. G. & SPOKAS, K. A. 2019. Phytostabilization of Zn and Cd in Mine Soil Using Corn in Combination with Biochars and Manure-Based Compost. *Environments*, 6, 69.
- TANDY, S., HEALEY, J. R., NASON, M. A., WILLIAMSON, J. C. & JONES, D. L. 2009. Remediation of metal polluted mine soil with compost: co-composting versus incorporation. *Environmental Pollution*, 157, 690-697.
- USDA, N. 2004. Soil survey laboratory methods manual. *Soil survey investigations report*, 42.
- WATSON, C., PULFORD, I. D. & RIDDELL-BLACK, D. 2003. Screening of willow species for resistance to heavy metals: comparison of performance in a

- hydroponics system and field trials. *International Journal of Phytoremediation*, 5, 351-365.
- WILKINS, D. A. 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root growth. *New Phytologist*, 80, 623-633.
- WILLIAMSON, N. A., JOHNSON, M. S. & BRADSHAW, A. D. 1982. Mine wastes reclamation London: Mining Journal Books.
- XIE, Z. M. & NAIDU, R. 2006. Factor influencing bioavailability of arsenic to crops. *Managing Arsenic in the Environment*. Naidu, R., y col. Eds ed. Collingwood, Australia: From Soils to Human Health.
- YANG, X., LIU, J., MCGROUTHER, K., HUANG, H., LU, K., GUO, X., HE, L., LIN, X., CHE, L. & YE, Z. 2016. Effect of biochar on the extractability of heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and enzyme activity in soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 974-984.
- ZÁRATE, H. & CAMILA, S. 2018. Fitoestabilización de Cadmio por *Lupinus Mutabilis* en un suelo contaminado del distrito El Mantaro, Jauja 2016.
- ZHANG, H. & SELIM, H. M. 2008. Reaction and transport of arsenic in soils: equilibrium and kinetic modeling. *Advances in Agronomy* 98, pp. 45-115.
- ZORNOZA, R., FAZ, Á., MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, S., ACOSTA, J. A., GÓMEZ-LÓPEZ, M. D. & AVILÉS-MARÍN, S. M. 2013. Marble waste and pig slurry increment soil quality and reduce metal availability in a tailing pond. *Terra Latinoamericana*, 31, 105-114.

7. ANEXO 1



Imagen 1. Parcela N°4 con la aplicación del tratamiento 1 (C+Bc+Z).



Imagen 2. Parcela N°12 con la aplicación del tratamiento 1 (C+Bc+Z).



Imagen 3. Parcela N°16 con la aplicación del tratamiento 1 (C+Bc+Z).



Imagen 4. Parcela N°5 con la aplicación del tratamiento 2 (C+Comp+Z).



Imagen 5. Parcela N°8 con la aplicación del tratamiento 2 (C+Comp+Z).



Imagen 6. Parcela N°11 con la aplicación del tratamiento 2 (C+Comp+Z).



Imagen 7. Parcela N°6 con la aplicación del tratamiento 3 (C+Bc+Comp+Z).



Imagen 8. Parcela N°14 con la aplicación del tratamiento 3 (C+Bc+Comp+Z).



Imagen 9. Parcela N°17 con la aplicación del tratamiento 3 (C+Bc+Comp+Z).