

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

**EVALUACIÓN EX-SITU DEL ESTABLECIMIENTO DE TUNA
CRIOLLA SOBRE RELAVES MINEROS ACONDICIONADOS**

JORGE EDUARDO RAMÍREZ PINO

Santiago, Chile

2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**EVALUACIÓN EX-SITU DEL ESTABLECIMIENTO DE TUNA
CRIOLLA SOBRE RELAVES MINEROS ACONDICIONADOS**

**EX-SITU EVALUATION OF CREOLE TUNA STABLISHMENT ON
AMENDED MINE TAILINGS**

JORGE EDUARDO RAMÍREZ PINO

Santiago, Chile

2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**EVALUACIÓN EX-SITU DEL ESTABLECIMIENTO DE TUNA
CRIOLLA SOBRE RELAVES MINEROS ACONDICIONADOS**

Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniero Agrónomo
Mención: Manejo de suelos y aguas

JORGE EDUARDO RAMÍREZ PINO

Profesores Guías	Calificaciones
Rosanna Ginocchio C. Licenciada en Biología, Dr.	7,0
María Teresa Varnero M. Químico Farmacéutico.	6,5
Profesores Evaluadores	
Víctor García de Cortázar G. de C. Ingeniero Agrónomo, Dr.	7,0
Roberto Neira R. Ingeniero Agrónomo, M.S., Ph. D.	6,0

Santiago, Chile

2012

ÍNDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	8
-Aspectos generales de los relaves mineros	9
-Metales en el medio ambiente	10
-Estabilización de depósitos de relaves	11
-Fitorremediación	12
-Objetivos	14
• Objetivo Principal	14
• Objetivos Específicos	14
-Revisión bibliográfica: El cultivo de <i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.	14
MATERIALES Y MÉTODOS	17
-Lugar de desarrollo del estudio	17
-Especie de estudio	17
-Sustratos y mezclas experimentales	18
-Cultivo experimental	20
-Determinación de metales en tejidos vegetales	21
-Análisis estadísticos	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
-Características físicas y químicas de los sustratos experimentales	22

-Características químicas de las aguas de poro de los sustratos	25
-Desarrollo y generación de biomasa en la tuna	27
• Biomasa aérea	27
• Biomasa Radical	30
-Contenido de metales en los tejidos	33
• Contenido de metales en biomasa aérea	33
• Contenido de metales en biomasa radical	36
CONCLUSIONES	39
BIBLIOGRAFÍA	40

RESUMEN

En Chile, se estima que existen cerca de 870 depósitos de relaves, de los cuales 746 están abandonados; la mayoría de ellos se encuentra entre la II y la VI Región del país. Debido al clima Mediterráneo semiárido de la zona centro-norte del país, las partículas finas de los relaves deshidratados quedan expuestas a agentes físicos, como el viento y la lluvia, los que pueden dispersarlas al entorno, contaminando cursos de agua y suelos aledaños. El cultivo de Tuna criolla (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) se presenta como una opción para fitoestabilizar depósitos de relaves post-operativos en zonas áridas y semiáridas, con el fin de utilizar la futura producción de biomasa en generación de energía limpia, entre otros usos productivos. En el presente estudio se evaluó el establecimiento de Tuna criolla sobre relaves mineros acondicionados con guano de cabra y rípios de lixiviación en distintas dosis. Los ensayos se mantuvieron durante 20 semanas bajo condiciones de laboratorio. Se determinaron características físicas y químicas de los sustratos y características químicas del agua de poro. Se evaluó el desarrollo de biomasa aérea y radical y la absorción de metales (Cu, Zn y Fe) en la parte aérea y radical de la especie en estudio. En base a los resultados obtenidos en este estudio, se puede concluir que la aplicación de guano de cabra y de rípio de lixiviación permite un aumento en la capacidad de enraizamiento de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en relaves mineros. En cuanto al desarrollo aéreo de esta, si bien existieron diferencias entre controles y tratamientos, no es posible afirmar tajantemente que la aplicación de estas enmiendas se traduce en una mayor producción de biomasa aérea. En cuanto a la absorción de metales, el guano de cabra y el rípio de lixiviación disminuyen la biodisponibilidad de estos, reduciendo su traslocación a órganos y estructuras aéreas; sin embargo, parecen no ser muy efectivos en cuanto a la disminución de la absorción de Cu en las raíces. En todo caso, no es posible descartar contaminación externa de metales en los tejidos radiculares. La adición de guano de cabra genera salinización de los relaves, lo que limita el crecimiento de las raíces. Este problema es acrecentado en ensayos en maceta. Por ello, sería recomendable realizar ensayos de la misma naturaleza bajo condiciones de campo. Así también, es necesario evaluar la respuesta de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. durante un tiempo más largo, para así generar respuestas más certeras en cuanto a su desarrollo y capacidad productiva.

Palabras clave: Fitorremediación, Fitoestabilización, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., Guano de cabra, Rípio de lixiviación, Metales.

ABSTRACT

In Chile, there are about 870 tailings dumps, of whom 746 are abandoned; most of them are located between the second and the sixth regions of the country. Due to the semi-arid Mediterranean climate type of north-central Chile, the fine particles of dried tailings are exposed to physical agents such as wind and short-heavy rains, which can disperse them to the environment, contaminating waterways and surrounding soils. Cultivation of Creole Tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill) is presented as an option for the phytostabilization of post-operative tailings in arid and semiarid zones, as its biomass can be used for clean energy production, among other productive uses. The present study evaluated the establishment of Creole tuna on tailings amended with goat manure and mine leaching gravel at different rates. The assay was held for 20 weeks under controlled laboratory conditions. Physical and chemical characteristics of the substrates and chemical characteristics of pore water were determined. Both aerial and root biomass production metal (Cu, Zn and Fe) concentration in roots and shoots were measured. Based on results of the present study, we can conclude that application of both goat manure and mine leaching gravel allows the increase of rooting capability of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill on mine tailings. Regarding to aerial biomass production, even though differences were found between controls and treatments, it is not possible to state categorically that the application of these amendments results in increased production. As for the absorption of metals, goat manure and mine leaching gravel decrease the bioavailability of these elements in the substrate, reducing their translocation to aerial structures; however, they do not seem to be very effective in terms of decreased absorption of Cu in roots. However, it is not possible to rule out external contamination of metals in root tissues. Salinization problems were detected in treatments with addition of goat manure, which affected the root growth. This problem is increased in pot trials. Therefore, further evaluations under field conditions are recommended. Finally, it is also relevant to evaluate the response of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. in a longer time-scale in order to generate more accurate responses with respect to their development and production capacity.

Key words: Phytoremediation, Phytostabilization, *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., Goatmanure, Mine leachinggravel, Metals.

INTRODUCCIÓN

La minería metálica representa la principal actividad económica del país. Sin embargo, la generación masiva de residuos sólidos producto de sus operaciones es consecuente con la escala actual a la cual trabaja esta industria. Por ejemplo, anualmente se producen miles a millones de toneladas de relaves, los que son acopiados en depósitos de relaves, cada vez de mayor superficie. La gran diversidad y volúmenes de residuos generados por esta industria puede imponer riesgos en el medio ambiente, incluyendo ecosistemas naturales, sistemas agrícolas, silvícolas y pecuarios, además de implicancias en la salud de la población (Bell, 1999; Dold, 2007; Ginocchio, 2004; Martin y Ruby, 2004; Sánchez, 2002).

En Chile, se estima que existen cerca de 870 depósitos de relaves, de los cuales 746 están abandonados (86%); la mayoría de ellos están concentrados entre la II y la VI Región del país (SERNAGEOMIN, 2007). Dadas las condiciones de clima Mediterráneo semiárido de la zona centro-norte del país, los depósitos de relaves comienzan a deshidratarse luego de ser abandonados (Dold y Fontboté, 2001). En consecuencia, las partículas finas quedan expuestas a diversos agentes físicos, como el viento y la lluvia, los que pueden dispersarlas al entorno, contaminando cursos de agua y suelos aledaños (Bell, 1999; Goodman, 1974; Mendez y Maier, 2008; Piha *et al.* 1995; Santibáñez, 2006). Por ello, una vez insertos en el paisaje hay que convivir con los depósitos de relaves y, en el mejor de los casos, intentar recuperarlos del abandono.

Las normativas mineras actuales exigen el cierre adecuado de estas estructuras, lo que involucra la estabilización física y química de ellos (Decreto Supremo, DS, N° 132 de 2002 del Ministerio de Minería y su Reglamento asociado sobre la *Aprobación de Proyectos de Diseño, Construcción, Operación y Cierre de los Depósitos de Relaves* materializado en el DS 248 de 2007 del Ministerio de Minería). La reciente aprobación de la Ley de Cierre y Abandono de Faenas Mineras en el Senado (Julio 2011), enfatiza aún más estos requerimientos. De esta forma, surge la necesidad en el sector minero de contar con tecnologías adecuadas y costo-efectivas para el cierre de los depósitos de relaves post-operativos, las que aseguren su estabilidad física y química.

Entre las tecnologías utilizadas con éxito en países desarrollados para la estabilización de depósitos de relaves post-operativos se encuentra la fitoestabilización, la que en relación a los depósitos de desechos mineros consiste en el establecimiento de plantas metalófitas excluyentes, o sea tolerantes a metales, y capaces de restringir el transporte interno de metales a los tejidos aéreos (Dietz y Schnoor, 2001; Mendez y Maier, 2008). Adicionalmente, requiere la incorporación de acondicionadores de sustrato adecuados para inmovilizar o reducir la biodisponibilidad de los metales presentes en los relaves (Berti y Cunningham, 2000; Ginocchio y León-Lobos, 2007; Martin y Ruby, 2004; Zhou *et al.* 1999) y para transformar los relaves en un sustrato más parecido al suelo. Troeh *et al.* (1999) indican que el establecimiento de una cubierta vegetal es una de las alternativas de recuperación, ya que ésta realiza un control de la erosión tanto eólica como hídrica de la superficie de los depósitos de relaves.

Aspectos generales de los relaves mineros

Los relaves mineros corresponden al residuo del proceso de concentración de minerales sulfurados de cobre por flotación alcalina (Dold y Fontboté, 2001). A grandes rasgos, este proceso involucra la molienda de la roca con minerales, la adición de 60% a 80% de agua aproximadamente, la adición de reactivos de flotación y espumantes, la inyección de aire para la generación de burbujas, la extracción del mineral flotado y la eliminación de la pulpa remanente denominada relave (Green, 2001; Casale *et al.*, 2011). La pulpa residual o relave es canalizada hasta un sector de acopio permanente mediante tuberías o canaletas. El depósito queda confinado mediante muros (embalses de relave) y se aprovechan las formas favorables de la topografía (Casale *et al.*, 2011).

El proceso natural de estabilización de un depósito de relave en la zona norte-centro de Chile considera, en primer término, la pérdida paulatina de humedad de los relaves por las condiciones climáticas áridas o semiáridas, permitiendo con esto, un depósito relativamente firme y seco. Todo el proceso de desecación puede tomar varios años, dependiendo de las condiciones ambientales en donde se inserta el tranque de relaves (Green, 2001; Casale *et al.*, 2011).

Los relaves mineros no pueden equipararse con un suelo, por no contar con las propiedades que caracterizan a estos últimos. El suelo es un cuerpo natural, que ocupa un espacio tridimensional, producto de la transformación del material originario (material parental) a través de procesos destructivos y de síntesis. Cada suelo puede considerarse como un individuo, que forma parte de un universo, con características únicas, producto de una determinada combinación de factores de formación (Honorato, 2000). Sin embargo, una vez establecidas las plantas e incorporados los acondicionadores de sustrato adecuados, pasan a formar un sustrato que sirve de sostén para la vegetación que eventualmente podría evolucionar en suelo (Ginocchio & León-Lobos, 2011).

Una de las propiedades físicas más importantes en un sustrato es la textura, que es una expresión cualitativa y cuantitativa del tamaño de las partículas. Cualitativa, porque se refiere al comportamiento que resulta del tamaño y de la naturaleza de los constituyentes del suelo, y cuantitativa por ser una expresión porcentual. Se refiere a la proporción relativa en peso de los diferentes tamaños de partículas existentes en él, expresada como porcentaje de la fracción mineral (Honorato, 2000). En el caso de los relaves mineros dispuestos en los muros, estos corresponden a sustratos gruesos o de textura arenosa, los cuales presentan baja retención de humedad aún con un buen aporte hídrico (Green, 2001; Casale *et al.*, 2011). Los relaves dispuestos en la cubeta presentan texturas finas, equivalentes a arcillas y limos finos, presentando problemas de compactación y drenaje restringido (Casale *et al.*, 2011). Por otro lado, la estructura corresponde a la forma en que se agrupan las partículas elementales (arena, limo y arcilla) en agregados. Estos agregados tienen propiedades diferentes de las de una masa igual de partículas elementales sin agregación (Honorato, 2000). En los relaves, esta propiedad no se presenta, por lo que se consideran sin estructura. Esta característica, en el caso de los suelos, la proporciona el origen del material y la alta concentración de

sodio presente en el sustrato que actúa como un elemento dispersante de las partículas (Honorato, 2000).

El material original que antecede al relave proviene generalmente de zonas profundas, de roca parental, donde la actividad microbiana es muy escasa o nula y los contenidos de macro y micronutrientes es despreciable, lo cual se traduce en un sustrato de muy baja fertilidad (Cotoras, 1996; De la Iglesia *et al.*, 2006; Dlabý *et al.*, 2007; Ginocchio & León-Lobos, 2011).

Metales en el Medio Ambiente

Los metales son elementos naturales cuya presencia en la corteza terrestre es inferior al 0,1% y casi siempre menor del 0,01% (García y Dorronsoro, 2004). Algunos de estos metales no tienen una función biológica conocida, y su presencia en determinadas cantidades en los seres vivos lleva consigo disfunciones en el funcionamiento normal (García y Dorronsoro, 2004). Sin embargo, algunos de estos elementos constituyen elementos esenciales para los seres vivos, tales como Cu, Zn, Fe, Si, Mn, Co, Mo y Ni, entre otros, hasta completar los 27 bioelementos que conforman la materia viva. Dentro de estos bioelementos, los metales componen mayoritariamente los bioelementos secundarios y los oligoelementos, siendo estos últimos los que se encuentran en menor cantidad en la materia viva (Baran, 1995).

Respecto a la presencia de metales en el ambiente, la toxicidad está determinada por las concentraciones de estos elementos y la biodisponibilidad en la cual se encuentran. Los metales con mayor probabilidad de encontrarse en un relave de minería de cobre en Chile corresponden a Hierro (Fe), Molibdeno (Mo), Cadmio (Cd), Cromo, (Cr), Níquel (Ni), Plomo (Pb) y Cobre (Cu). Algunos de estos elementos corresponden a micronutrientes para las plantas, por lo que son necesarios en cantidades muy pequeñas. A pesar de que las concentraciones umbrales varían, se puede asumir que concentraciones totales por sobre 0,1% para elementos individuales son tóxicas, lo que depende, sin embargo, de su biodisponibilidad (Green, 2001). Este término corresponde a la fracción biológicamente activa del total de metal presente en el medio. En el caso de metales biodisponibles en suelos, corresponde a la fracción soluble en la solución suelo y que puede ser absorbida por las raíces de las plantas. Es un concepto dinámico, ya que implica equilibrios químicos entre las concentraciones totales de metales y las fracciones solubles (Ginocchio y Rodríguez, 2005). Esta disponibilidad dependerá principalmente de las condiciones químicas de la solución. En forma natural, es posible encontrar metales de diversas formas o especies en un suelo o sustrato, incluyendo iones hidratados libres, complejos con ligandos orgánicos e inorgánicos, o adsorbidos a superficies de partículas. Los ligandos orgánicos pueden ser macromoléculas naturales o moléculas pequeñas de origen antrópico o natural, o ligandos presentes en la superficie de un organismo vivo directamente expuestas al medio (Torres, 2005).

Por la experiencia en ensayos realizados en suelos agrícolas contaminados, se ha demostrado que, más importante que la concentración de elementos totales, es la concentración de elementos solubles aprovechables para las plantas o biodisponibles,

los que determinan la presencia de estos en las especies cultivadas (Ginocchio *et al.*, 2001). En estos ensayos, realizados en suelos del Valle del Cachapoal con distintos niveles de metales derivados de contaminación histórica con relaves mineros, diversas especies agrícolas fueron cultivadas. Los resultados de este estudio indican que los contenidos de metales, como cobre, observados en los órganos y estructuras comestibles de las distintas especies son similares a los observados en especies cultivadas en suelos con niveles normales de metales (Ginocchio y Rodríguez, 2005).

Estabilización de depósitos de relaves

Para estabilizar las superficies de un depósito de relaves se deben considerar tres aspectos: estabilización física, estabilización química y estabilización biológica, siendo la estabilización biológica relevante sólo al utilizar métodos de estabilización biológicos, como la fitoestabilización (Cuadro 1; Lambert *et al.*, 1999). La estabilización se hace en depósitos post-operativos o en etapa de abandono. Mientras el depósito está activo, tiene un contenido alto de agua por lo que se necesita que la superficie esté seca para empezar a trabajar. Hay distintas formas que se usan en el mundo para estabilizar un depósito de relaves (Ginocchio & León-Lobos, 2011); dentro de ellas está el cubrimiento con cemento o cubiertas vitrificantes, los que en zonas muy áridas donde la vegetación no puede crecer, son alternativas, pero representan opciones caras. Un depósito también se puede cubrir con material grueso de descarte de otras etapas del procesamiento minero, como estériles de mina (Ginocchio & León-Lobos, 2011).

Es importante destacar que no hay una opción única, establecida *a priori*; más bien es el lugar el que determina las posibilidades, considerando el tipo de relave, el entorno (cerca de un poblado o en medio del desierto) y la ubicación geográfica (Ginocchio & León-Lobos, 2011). Además, los recursos económicos determinan cuál será la opción que se decida, pues cementar un tranque de 60 ó 120 hectáreas es caro y la única opción de eso sería, si está cerca de una ciudad que ha ido creciendo, incorporarlo y tal vez construir estacionamientos o un centro comercial; esa vía restringe las alternativas y endurece el paisaje (CIMM, 2007).

En cuanto al plan biológico de estabilización, la necesidad de una cubierta vegetal tiene como objeto, no solamente el control de la erosión, sino también el favorecimiento de la fauna y/o el establecimiento del equilibrio ecológico, además de la integración del espacio utilizado por la estructura en el paisaje (Lambert *et al.*, 1999). Por el contrario, la desprotección del sustrato permite el paso del viento a gran velocidad ocasionando el desprendimiento, transporte y deposición del material suelo. En el caso de la lluvia, la pérdida de material se produce por arrastre, generando grietas que dificultan la utilización de la superficie y posibilitan la contaminación de los cauces de ríos por metales pesados (Troeh *et al.*, 1999).

Estabilización:

- Cementación (US \$ 160.000/ha)
 - Vitrificación (fundición y fusión de materiales a temperaturas >2.100 °C)
 - Cobertura con suelo (US \$ 130.000/ha)
 - Mecanismos biológicos aplicables a la remediación de suelos
-

- Fitorremediación:

- Fitoestabilización (US \$ 60.000/ha)
 - Fitoextracción
 - Fitovolatilización
-

Cuadro 1: Metodologías de estabilización de relaves mineros y sus precios (valores en dólares norteamericanos, para Estados Unidos). Fuente: Ginocchio y Santibáñez, 2007.

Fitorremediación

La Fitorremediación utiliza plantas y los organismos asociados a estas, para tratar la contaminación en suelos, aguas y en algunos residuos de actividades productivas (Morikawa y Erkin, 2003). Esta tecnología agrupa una serie de métodos, los que se indican en la Figura 1.

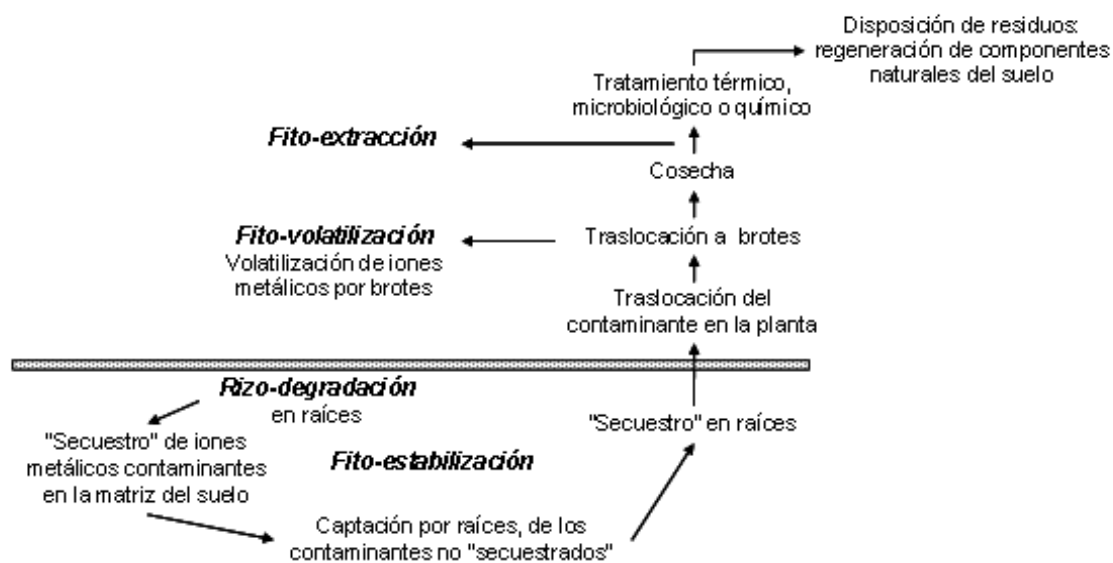


Figura 1: Esquema de tecnologías asociadas a la fitorremediación. Fuente: Singh *et al.*, 2003.

En el caso particular de la fitoestabilización, esta metodología se ha estado estudiando y aplicando por lo menos hace 20 años en Estados Unidos, Canadá, Australia y en varios países europeos. A pesar de haber logrado experiencias bastante buenas en recuperar o estabilizar suelos contaminados con desechos mineros, el tema no generó

interés en Chile sino hasta mediados de la década de los '90, con el establecimiento de la legislación ambiental. Desde esa época, el interés ha ido aumentando. Los estudios de desarrollo y validación de la tecnología de fitoestabilización comenzaron en la P. Universidad Católica de Chile y siguieron en el Centro de Investigación Minera y Metalúrgica. Se sumaron otros grupos de investigadores de la Universidad de Santiago de Chile y de la P. Universidad Católica de Valparaíso (CIMM, 2007).

La tecnología de fitoestabilización consiste en el establecimiento de plantas metalófitas excluyentes y la aplicación de enmiendas adecuadas a través de un programa de rehabilitación ecológica, de forma de dejar a los metales presentes en el sustrato en formas inocuas (estabilización química), reducir la erosión superficial (estabilización física) y restituir un ecosistema funcional y autosustentable (estabilización biológica) (Ginocchio y Santibáñez, 2007; Ginocchio & León-Lobos, 2011). Los metales presentes en el relave son quelados, absorbidos, acumulados y/o adsorbidos en las raíces o bien precipitados por la presencia de exudados vegetales y de las enmiendas agregadas. Estos mecanismos conducen a la estabilización física y química de los sustratos de interés a través de una reducción en la movilidad, toxicidad y/o biodisponibilidad de los contaminantes (Ginocchio & León-Lobos, 2011).

Adicionalmente, la fitoestabilización permite la restauración y la recuperación ecológica del paisaje. A través de la utilización de vegetación endémica o nativa local, adaptada a las altas concentraciones de metales y de acondicionadores de sustrato, para estabilizar física, química y biológicamente los desechos mineros, es posible generar ecosistemas funcionales y autosustentables. Lo que se hace es tratar de introducir la vegetación del entorno en el depósito de relaves, con ciertas consideraciones, porque como un relave no es un suelo sino un desecho, no cumple con lo básico para sustentar el crecimiento de la vegetación ni de la microbiota, salvo que se haga un manejo con esta nueva tecnología (Ginocchio y Santibáñez, 2007). En este sentido, el uso de enmiendas orgánicas (biosólidos, guanos, compost) y/o inorgánicas (cal, ripios, cenizas) es una buena alternativa para mejorar las propiedades físicas (estructura, agregación, drenaje y capacidad de retención de humedad) y los niveles de nutrientes, restituir la actividad microbiana y disminuir la toxicidad por metales de los relaves, facilitando el crecimiento radical y aéreo de las plantas (Labrador, 1996; Ginocchio y Santibáñez, 2007; Ginocchio y León-Lobos, 2011).

Las plantas usadas con este fin deben ser especies no comestibles o especies en las que la traslocación de metales a los tejidos aéreos sea restringida, para que puedan consumirse por animales herbívoros. Sin embargo, se ha intentado identificar especies vegetales que pueden entregar algún valor agregado, además de cumplir con el objetivo fundamental de estabilización de los relaves. Es así como se han propuesto diversas alternativas, tales como la plantación de árboles para generar biomasa que pueda ser usada para bioenergía, utilización de especies con fines cosméticos (*Aloe vera*), utilización de especies menores para la producción de biodiesel, biogás u otras fuentes ecológicas de energía (FAO, 2008; Ginocchio, 2008; Tisch *et al.*, 2008; Ginocchio y León-Lobos, 2011).

En Chile, dentro de las especies vegetales con un potencial interesante de valorización por su cultivo en depósitos de relaves fitoestabilizados, se encuentra la *Opuntia ficus-*

indica (L.) Mill., conocida comúnmente como tuna. Si bien esta especie no ha sido utilizada en esta aplicación, tanto en Chile como en el extranjero, el cultivo de tuna se presenta como una opción para este método de estabilización en zonas áridas y semiáridas, con el fin de utilizar la futura producción de biomasa en generación de energía limpia (Varnero y García de Cortazar, 2006), entre otras posibilidades. Esta especie presenta ventajas en relación a otras, dado que su alta eficiencia productiva, amplio rango de adaptación, rápido crecimiento y bajos requerimientos de insumos, constituyen una opción energética viable, ya que de sus tallos y frutos es posible obtener biogás, biodiesel y bioetanol o productos semi-terminados que pueden ser empleados directamente. Es factible obtener biogás usando como substrato cladodios de tuna. Para ello se utilizan estructuras especialmente diseñadas (biodigestores) en combinación con otros factores (temperatura, humedad, etc.). La optimización del diseño y manejo de los factores inciden directamente en la productividad del biogás. Cabe aclarar que también, como resultado del proceso de biodigestión, es posible obtener un bioabono (sólido y líquido de alta calidad nutritiva) que puede ser empleado en el enriquecimiento de las mismas plantaciones de tuna (Mendez-Gallegos *et al*, 2010).

Es así que la fitoestabilización de depósitos de relaves en etapa de abandono con cultivos de tuna presentaría una doble utilidad, evitando degradación ambiental directa por efectos erosivos, e implementando un sistema de generación de energía amigable con el medio ambiente.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el enraizamiento y el crecimiento de cladodios de *Opuntia ficus-indica* Mill. en relaves mineros acondicionados con residuos orgánicos y rípios de lixiviación.

Objetivos Específicos

Cuantificar la biomasa aérea y radical generada a partir de cladodios de *Opuntia ficus-indica* Mill. trasplantados a relaves mineros acondicionados con guano de cabra y rípios de lixiviación y en un suelo control.

Cuantificar la presencia de elementos traza metálicos en la biomasa aérea y radical generada a partir de cladodios de *Opuntia ficus-indica* Mill. trasplantados a relaves mineros acondicionados con guano de cabra y rípios de lixiviación.

Revisión Bibliográfica: El cultivo de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

Las cactáceas son plantas arborescentes o arbustivas, raras veces enredaderas, generalmente con hábito xerófito, de maderas blandas y cuerpo succulento que tiende a

lignificarse con el tiempo. Este cuerpo puede estar constituido por segmentos, denominados cladodios, de forma aplanada (como en las tunas), cilíndrico (como en los quiscos) o globosa (como la mayoría de los cactus chilenos; Hoffmann y Walter, 2004). *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., la tuna, pertenece a la subfamilia Opuntioideae, presentando cladodios aplanados y un sistema radicular fasciculado y superficial (Hoffmann y Walter, 2004). Respecto a su metabolismo, las plantas como *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. abren sus estomas en la noche, de modo que la entrada de CO₂ y la pérdida de vapor de agua asociada ocurren en la parte más fresca del ciclo del día. Este patrón de intercambio de gases es conocido como Metabolismo del Ácido Crasuláceo (CAM) debido a que ha sido estudiado extensamente en las Crasuláceas, aunque aparentemente se haya reconocido inicialmente en las Cactáceas (Ting, 1985; Nobel, 1988). Las plantas CAM son nativas de regiones áridas y semiáridas, así como de aquellos microambientes sujetos a sequías recurrentes tales como el de las epifitas que crecen en los árboles de selvas tropicales (Winter, 1985; Nobel 1991).

La alta eficiencia en el uso del agua en las plantas CAM, como la Tuna, se relaciona con la reducida diferencia de concentración de vapor de agua entre la planta y la atmósfera durante el período de máxima apertura estomática (Nobel, 1999). Debido a que la temperatura promedio del tejido típicamente es al menos 10° C más baja en la noche que durante el día en muchas localidades, las plantas CAM tienden a perder únicamente 20 a 35% del agua que normalmente es perdida en las plantas C₃ o C₄ para una apertura estomática determinada. Esta es la característica clave para su utilidad como cultivo forrajero en regiones áridas y semiáridas.

En el caso de la temperatura, no sólo afecta los procesos metabólicos y la absorción neta de CO₂ sino que las temperaturas extremas pueden inducir daños y aun la muerte de las plantas. En este aspecto *O. ficus-indica* es extremadamente tolerante a temperaturas altas del aire, pero no a temperaturas substancialmente abajo del punto de congelación (Nobel, 1988).

La absorción neta de CO₂ y la productividad de *O. ficus-indica* son influenciadas por los macronutrientes y micronutrientes del suelo, así como la salinidad y la textura de este (Nobel, 1988; Hatzman *et al.*, 1991). Debido a que el contenido de N en los suelos arenosos nativos de las regiones áridas y semiáridas se encuentra generalmente por debajo del 0,07 %, la fertilización nitrogenada usualmente incrementa el crecimiento de *O. ficus-indica* (Nobel *et al.*, 1987). Aunque el N es el elemento esencial más limitante, el crecimiento de las opuntias es también estimulado por la fertilización fosfórica y potásica (Nobel, 1989).

Como la mayoría de las cactáceas, *O. ficus-indica* es sensible a la salinidad del suelo. La inhibición del crecimiento es casi lineal con el contenido de sodio; valores de sodio en el suelo de 150 mg kg⁻¹ se asocian con una reducción del 50 por ciento de la acumulación de biomasa en *O. ficus-indica* (Nobel, 1989). Las raíces son más afectadas por la salinidad que la parte aérea.

O. ficus-indica en Santiago, Chile, bajo condiciones de suelo húmedo (provisas por riego durante todo el año), temperaturas moderadas y cercanas a las óptimas para la absorción de CO₂, índices de área foliar de 4 a 6, y sin limitaciones de nutrientes del

suelo, presenta una productividad de materia seca cercana a las 50 t ha⁻¹ año⁻¹ (García de Cortázar y Nobel, 1991 1992; Nobel *et al*, 1992).

Esta especie se propaga fácilmente mediante cladodios, los cuales se pueden llevar directamente al terreno definitivo. También puede ser propagada en vivero mediante plantación de alta densidad de trozos de cladodio, injertación y cultivo *in vitro*.

Ensayos efectuados con cladodios en bolsas de polietileno negro conteniendo mezclas de bioabono de cladodios, guano y suelos serie Santiago, indican que el uso de bioabono permite acelerar el enraizamiento y la brotación de los cladodios (Varnero y García de Cortázar, 2006; Saenz *et al*, 2006). En relación a la biomasa producida, no hay diferencias significativas en la biomasa total producida ni en la biomasa radical. La biomasa de raíces por planta tiende a ser una fracción constante de la biomasa total. La asignación de recursos entre la parte aérea y la radical es similar a la de plantas C₃ o C₄, en los que la prioridad de asignación de carbohidratos es hacia la parte aérea, asegurando una relación biomasa aérea y radical de aproximadamente 6:1 al cabo de un año (García de Cortázar y Nobel, 1992).

Finalmente, esta especie presenta un uso potencial para la producción de biogás. Si bien las experiencias realizadas en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile con esta especie vegetal indican que los cladodios no constituyen por sí solos un buen material metanogénico, la incorporación de cladodios de tuna en la digestión anaeróbica de guanos animales, favorecería la fermentación metanogénica, siempre que el pH de las mezclas de estas materias primas se mantenga dentro de rangos neutros o ligeramente ácidos (Uribe *et al*, 1992; Varnero *et al*, 1992; Varnero y López, 1996; Varnero y García de Cortázar, 1998). La inclusión de un porcentaje adecuado de cladodios en guanos animales, influye positivamente en el tiempo de inicio del proceso de fermentación vegetal (Uribe *et al*, 1992; Varnero *et al*, 1992). Esto se atribuye a la fuente energética y carbonada que proporciona la opuntia, favoreciendo el desarrollo de bacterias acidogénicas, las que generan el sustrato que requieren las metanobacterias, acelerando el proceso metanogénico y concentrando esta actividad en un menor tiempo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de desarrollo del estudio

El montaje y desarrollo del estudio se llevó a cabo en el Centro de Investigación Minera y Metalúrgica CIMM, específicamente en los laboratorios de la Unidad de Fitotoxicidad y Fitorremediación. El cultivo experimental se realizó en la sala de cultivo de plantas del laboratorio de Fitotoxicidad y Fitorremediación, mientras que las determinaciones analíticas se realizaron en el Laboratorio de Suelos y Plantas. Esta institución se encuentra ubicada en Av. Parque Antonio Rabat # 6500, Vitacura, Santiago. Chile.

Especie de estudio

Se seleccionó la especie *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., la tuna, ya que sus características ecológicas (resistencia a la sequía y altas temperatura, alta capacidad de propagación vegetativa, etc.) permiten suponer que podría establecerse en depósitos de relaves mineros acondicionados, ubicados en la zona Mediterránea árida y semiárida de Chile norte-central. Adicionalmente, esta especie es interesante desde el punto de vista de su utilización potencial, como en bioenergía, entre otros.

Para el ensayo experimental descrito más adelante, se obtuvieron 30 cladodios con el desarrollo suficiente para su propagación (30 cm de longitud aprox.), a partir de individuos adultos ubicados en el centro experimental en el campus Antumapu de la Universidad de Chile. Los cladodios utilizados se mantuvieron durante 15 días en el Laboratorio de Fitotoxicidad y Fitorremediación del Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM), para permitir el secado de la zona de corte (Figura 2). La zona de corte de los cladodios fue desinfectada contra hongos con una solución de Captan (0,6 g L⁻¹); adicionalmente, se aplicó insecticida Casa y Jardín marca Raid.



Figura 2: Cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. desinfectados, secando la zona de corte.

Sustratos y mezclas experimentales

Los relaves utilizados se obtuvieron del tranque El Cobre de la División El Soldado de Anglo American Chile, ubicada en la comuna de Nogales, V Región de Valparaíso, y corresponden a los desechos generados en la planta de flotación de minerales sulfurados de cobre. Para el acondicionamiento de los relaves, se seleccionaron acondicionadores tanto orgánicos como inorgánicos, los que constituyen desechos de otras industrias. Específicamente, se utilizó guano de cabra de la IV Región de Coquimbo como acondicionador orgánico, para mejorar la condición macronutricional y de contenido de materia orgánica del relave. Este acondicionador orgánico fue secado en estufa a 43°C durante 24 horas y molido mediante una procesadora de alimentos, marca Moulinex, previo a su utilización. Como acondicionador inorgánico se utilizó ripio de lixiviación, para mejorar la condición de textura del relave. Este se obtuvo de la Planta Ovalle de ENAMI, ubicada en el Valle del Ingenio, cercanías de Ovalle, IV Región de Coquimbo.

Con estos materiales se prepararon 3 mezclas experimentales, según las proporciones indicadas en el Cuadro 2. Las mezclas fueron preparadas en bidones plásticos de 3 L, con tapa, las que se homogeneizaron en un Roller automatizado, a 20 rpm por 2 horas (Figura 3); las mezclas fueron distribuidas en macetas plásticas de 3 litros aprox., adecuadas a la especie de estudio. Adicionalmente, se consideró como control negativo (C-) el relave sin acondicionar y como control positivo (C+) un suelo representativo de la zona central de Chile; específicamente un suelo de la serie Santiago colectado en el campus Antumapu de la Universidad de Chile, comuna de la Pintana, Santiago, donde actualmente se cultiva esta especie. Cada tratamiento experimental fue replicado 6 veces.



Figura 3: Homogeneización de las mezclas experimentales de sustrato en Roller automatizado.

Cuadro 2. Composición de las mezclas experimentales de relaves y acondicionadores que se utilizaron en este estudio (% volumen/volumen en peso seco).

Tratamiento	Ripio lixiviación (% p.s.)	Guano cabra (t/ha)	Relave (% p.s.)	Suelo (% p.s.)
C+	0	0	0	100
C-	0	0	100	0
T 1	50	100	50	0
T 2	33	100	67	0
T 3	0	100	100	0

C+: Control positivo; C-: Control negativo; T1: Tratamiento 1; T2: Tratamiento 2; T3: Tratamiento 3; p.s.: Peso seco.

Las mezclas experimentales presentaron una dosis de guano de cabra de 100 t/ha. Esta dosis se definió en base al N disponible presente en el suelo control (10 mgkg⁻¹ aprox.); de esta forma, las mezclas experimentales de relaves y guano de cabra se ajustaron a valores similares de N disponible en un suelo con cultivo actual de tuna (suelo C+).

Las mezclas experimentales fueron caracterizadas física y químicamente al inicio del estudio. El nitrógeno disponible se determinó mediante extracción con cloruro de potasio 2 mol L⁻¹, destilación con óxido de magnesio (MgO) y con aleación Devarda y titulación con ácido sulfúrico. El fósforo disponible se determinó mediante extracción con solución de bicarbonato de sodio 0,5 mol L⁻¹ a pH 8,5 y posterior determinación colorimétrica de azul de molibdeno usando ácido ascórbico como reductor (Sadzawka *et al.* 2004). El potasio disponible se determinó mediante extracción con solución de acetato de amonio 1 mol L⁻¹ a pH 7,0 y posterior determinación por espectrofotometría de emisión atómica con lantano (Sadzawka *et al.* 2004).

La determinación del contenido total de metales (cobre, zinc y hierro) se realizó de acuerdo a un procedimiento modificado del descrito por US EPA 3052 (US EPA, 1994) de digestión ácida de sustratos, con el empleo de un sistema de digestión microondas (MILESTONE 1200 modelo Ethos D). Los metales se determinaron por espectrometría de absorción atómica. Para la determinación del contenido de cobre y zinc en el extracto acuoso, se realizó el procedimiento descrito por Allen (1997), para cuantificar el contenido de metales por absorción atómica.

Los análisis de pH, materia orgánica, conductividad eléctrica, contenido de sulfatos y capacidad de intercambio catiónico se realizaron de acuerdo a los protocolos descritos por el "Soil Survey Laboratory Methods Manual" (USDA, 1996). El análisis de distribución de tamaño de partículas, que determina la textura del sustrato, se realizó con el método del hidrómetro que está basado en la relación de Stokes. Este procedimiento es descrito en SSSA y ASA (Gee y Bauder, 1986).

Cultivo experimental

Se evaluó el establecimiento y el crecimiento de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en los 3 sustratos experimentales y ambos controles, usando los propágulos indicados anteriormente. Se realizaron 6 repeticiones por tratamiento, con 1 cladodio plantado por repetición, en macetas individuales de 3 L. Las macetas experimentales se mantuvieron en una sala de cultivo de plantas, con condiciones controladas de temperatura (22 ± 3 °C) y de intensidad lumínica ($160 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). El fotoperíodo fue de 12 horas de luz al día. Una vez a la semana, las macetas fueron reordenadas en forma aleatoria, de forma de evitar efectos de borde. El ensayo se mantuvo durante 20 semanas. Las macetas con los cladodios fueron regadas con agua desionizada, a un 60% de capacidad de campo, dos veces a la semana.

Tanto al inicio (semana 1) como al final del estudio (semana 20) se extrajo agua de poro de los sustratos en 4 de las 6 repeticiones de cada tratamiento experimental, mediante muestreadores Rhizon® *soil pore water samplers*, unidas a jeringas de plástico de 10 mL (Figura 4). En el agua de poro extraída fueron determinados el pH y la CE mediante potenciometría. El cobre iónico libre se determinó utilizando un electrodo selectivo de iones Cu^{2+} (Orion 9629 BN), el cual fue calibrado usando soluciones tampón de ácido iminodiacético (Rachou *et al*, 2007). Con los valores de Cu^{2+} se calculó la actividad de los iones Cu^{2+} libre o pCu^{2+} , siendo $\text{pCu}^{2+} = -\log [\text{Cu}^{2+}]$.



Figura 4: Macetas experimentales con jeringas instaladas para la extracción de agua de poro con muestreadores Rhizon® *soil pore water samplers* insertados en los sustratos.

Las variables respuesta evaluadas en las plantas al cabo de las 20 semanas de cultivo se describen a continuación. Se pesó el cladodio plantado tanto al inicio como al término del ensayo (peso húmedo). Se registraron los cladodios o estructuras nuevas generadas a partir del cladodio original plantado y se determinó la biomasa seca de cada una de estas

estructuras (cladodio original y estructuras nuevas), por separado. Para cuantificar la biomasa seca total de las partes aéreas, éstas fueron trozadas, lavadas con agua desionizada, secadas con papel secante y secadas en estufa a 60° C, hasta peso constante. Posteriormente, se cuantificó la biomasa seca total de las raíces generadas por cladodio. Las raíces fueron cuidadosamente extraídas de las macetas experimentales y lavadas con agua desionizada, con la ayuda de pinceles, para eliminar las partículas de sustrato adheridas. Luego, fueron puestas en un vaso precipitado con agua desionizada, el que se introdujo en un sonicador por ultrasonido por 5 minutos. Posteriormente, las raíces fueron enjuagadas con agua desionizada y finalmente secadas en estufa a 43° C hasta peso constante. Finalmente, se determinó la concentración de metales (Cu, Zn y Fe) en los cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., usando la metodología descrita a continuación.

Determinación de metales en tejidos vegetales

Para evaluar la traslocación de metales desde los sustratos a las distintas estructuras vegetales, los tejidos vegetales fueron secados y procesados luego de la determinación de biomasa seca aérea total. El tercio central del cladodio plantado fue seccionado y lavado con agua desionizada; se redujeron a cubos de aproximadamente 1 cm³, los que fueron secados en estufa a 60° C hasta peso constante. Luego se molieron en una procesadora de alimentos con cuchillas de acero inoxidable marca Moulinex.

Para determinar el contenido total de metales se realizó una digestión ácida en microondas (MILESTONE, modelo Ethos D), de acuerdo a la metodología indicada por el fabricante. Una muestra de hasta 0,25 g fue digerida en 6 mL de ácido nítrico concentrado y 1 mL de peróxido de hidrógeno, durante 24 minutos (6 min – 250W; 6 min – 400W; 6 min 650W y 6 min – 250W). Las muestras se enfriaron a temperatura ambiente y se trasvasijaron a matraces de 25 mL, en ambiente ácido nítrico al 0,2%. El contenido total de Cu, Zn y Fe se determinó por espectrometría de absorción atómica (US EPA, 1994; USDA, 1996).

Análisis estadístico

Las variables respuestas, tanto de los sustratos experimentales como de la especie vegetal seleccionada, fueron evaluadas para cada uno de los 3 tratamientos y los dos controles mediante Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía y test de LSD Fisher como prueba *a posteriori*, considerando un 95% de confianza. Para contrastar las variables químicas de las aguas de poro en el tiempo, se usó ANOVA de dos vías y test de LSD Fisher como prueba *a posteriori*, considerando un 95% de confianza. Se verificó la normalidad de los datos usando las pruebas de Shaphiro-Wilkins. Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa estadístico Infostat versión 6.0 (© 2010 - Infostat).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características físicas y químicas de los sustratos experimentales

Las características físicas y químicas de los sustratos control (C+ y C-) y experimentales (T1, T2 y T3) al momento del establecimiento del ensayo se presentan en el Cuadro 3. El pH es similar en todos los sustratos utilizados, siendo cercano a la neutralidad. Es importante destacar la estabilidad observada en este parámetro, particularmente en los tratamientos experimentales, ya que estos están compuestos, además del relave original, por rípios de lixiviación con pH ácido (pH de 5,28) y por guano de cabra, un material orgánico no estabilizado; en este último caso, se esperaría una disminución del pH debido a la degradación inicial del material y una siguiente estabilización del pH, con valores cercanos a la neutralidad. Al mostrar el pH valores cercanos a la neutralidad, este parámetro no es relevante en cuanto a la solubilización de los metales, ya que esta aumenta hacia pH ácidos (Adriano, 2001; Honorato, 2000).

Los contenidos de materia orgánica son similares en los tres tratamientos y el control positivo (entre 1,2 y 1,7%), por lo que la adición de guano logró mejorar los niveles de materia orgánica del relave a los de un suelo bajo cultivo actual de tuna. El control negativo presenta bajos contenidos de materia orgánica (0,2%). Respuestas similares se han obtenido en diversas investigaciones, donde el contenido de carbono orgánico está directamente relacionado con la dosis de abono orgánico aplicada (García y Lobo, 2000; Jimenez *et al.*, 1999; García, 1997; Sánchez, 1993). La materia orgánica es esencial en la obtención de un ecosistema autosustentable debido a su influencia sobre las características físicas, químicas y biológicas de un sustrato (Honorato, 2000).

El contenido total de cobre es muy superior en los tres tratamientos y en C- en comparación a C+, mientras que el contenido total de Zn es similar en todos los sustratos (Cuadro 3). En el caso del cobre, los contenidos superan ampliamente el rango descrito como normal para suelos, entre 2 y 250 mg kg⁻¹ (Alloway, 1990). En cuanto al contenido de zinc, este se encuentra dentro del rango normal (1 y 900 mg kg⁻¹) para suelos descrito por Alloway (1990).

La conductividad eléctrica (CE) es superior a los 8 dS m⁻¹ en los tres tratamientos, superando ampliamente los valores de C+ y de C- (Cuadro 3). El aumento en la CE de los sustratos experimentales estaría directamente relacionada con el alto contenido de sales del guano de cabra usado como acondicionador orgánico (CE de 12,2 dS m⁻¹), más bien que por la adición de rípios de lixiviación (CE de 5,6 dS m⁻¹). Este aumento en la CE del sustrato podría afectar el establecimiento, crecimiento y sobrevivencia de la especie de interés de cultivo (Conesa *et al.* 2007; Ho *et al.* 1999). Estos valores catalogan a los tratamientos y a C- como sustratos muy salinos según la escala de salinidad de la USDA (1996). En general, los iones Na⁺ y Cl⁻, que pueden causar toxicidad directa, no son comunes en los relaves mineros y no constituyen las sales solubles predominantes en el acondicionador orgánico utilizado (Orchard, 2008). Cabe destacar que el guano de cabra es un acondicionador orgánico salino rico en compuestos

nitrogenados (Chiu *et al.* 2006; Kihanda *et al.* 2004); por lo tanto, puede estar contribuyendo con nitratos a los sustratos experimentales y, consecuentemente, puede aumentar la CE de estos.

La presencia de sulfatos es variable en los tratamientos, con valores cercanos a los 6.000 mg L⁻¹ en T1 y T2, y a 3.000 mg/L en T3. Esta diferencia indica mayor aporte de sulfatos por parte del ripio de lixiviación más que del guano de cabra a los sustratos experimentales (3.454 mg L⁻¹ y 642 mg L⁻¹, respectivamente). Si bien estos valores pueden tener un efecto tóxico en las plantas, es importante mencionar el efecto neutralizador de Ca presente en el relave y en el guano de cabra (Orchard, 2008).

La capacidad de intercambio catiónico (CIC) presenta diferencias entre los controles y los tratamientos. Existe una evidente disminución de la CIC en T2 y T3 frente a C-. T1 presenta valores similares a los obtenidos en C-. Este comportamiento al parecer no se relaciona directamente con la materia orgánica aplicada (misma dosis en los tratamientos), a pesar de que diversos autores señalan una alta correlación entre la materia orgánica aplicada y el aumento de la CIC (Fuentes, 1971). Sin embargo, todos los valores de CIC presentados en los tratamientos son similares o superiores al suelo control, por lo cual esta característica no presenta un impedimento para el desarrollo vegetal.

En cuanto a la textura de los sustratos, C+ muestra una distribución más equilibrada que C- y los tratamientos, siendo consistente con la textura franco arenosa definida (CIREN, 1996). Por el contrario, C- y todos los tratamientos experimentales presentan una gran dominancia de partículas gruesas, sobre los 50 µm, con valores mayores a 77% (Cuadro 3). De esta forma, su textura podría ser clasificada como areno francosa, según el triángulo de clasificación textural de la USDA. Estas diferencias texturales son relevantes en las características físicas y químicas de los sustratos, principalmente en aquellas que influyen directamente en el desarrollo vegetal. Diferencias en la capacidad de absorción, retención y velocidad de infiltración de agua pueden definir el éxito o el fracaso de un programa de restauración ecológica. De la misma forma, diferencias texturales influirán directamente en la estructura o formación de esta en los sustratos experimentales.

Finalmente, es importante destacar que la caracterización física y química de los sustratos utilizados fue realizada a inicios de los ensayos, por lo que pueden haber ocurrido variaciones a lo largo de las 20 semanas del estudio.

Cuadro 3. Características físicas y químicas de los sustratos control y experimentales al inicio del ensayo experimental.

Tratamiento*	pH	MO (%)	Cont. Metales (mg/kg)		CE (dS/m)	Sulfato (mg/L)	CIC meq/100 NH ₄ pH7	Ac- < 2µm	Textura (%)		
			Cu	Zn					2 y50 2 µm	50 y 2000 µm	
C+	7,77	1,36	60,9	90,2	0,40	15,9	27,27	20,0	39,4	40,5	
C-	7,35	0,21	5774,5	111,7	2,23	1541,5	49,13	11,4	11,4	77,1	
T1	6,895	1,71	4852,9	115,1	10,82	5544,5	50,19	12,6	8,8	78,6	
T2	7,125	1,21	4751,1	174,3	11,71	6190,5	28,83	12,6	6,3	81,1	
T3	7,53	1,11	5777,1	109,8	8,87	3212,8	32,2	11,1	6,8	82,1	

*, Código de los tratamientos según el Cuadro 1. MO: materia orgánica; CE: conductividad eléctrica; CIC: capacidad de intercambio catiónico.

Características químicas de las aguas de poro de los sustratos

En el Cuadro 4 se muestra la variación de conductividad eléctrica (CE) y pH de las aguas de poro de los sustratos experimentales al inicio y término del ensayo. Los análisis de varianza de dos vías para el pH mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ($F = 18,53$, $p < 0,05$), y en el tiempo ($F = 13,83$, $p < 0,05$) pero no para la interacción tratamientos x tiempo ($F = 1,59$, $p = 0,2163$).

Las diferencias encontradas entre los tratamientos probablemente respondan a las diferentes dosis de acondicionadores aplicadas en cada sustrato experimental. Si bien sólo T2 arroja diferencias estadísticamente significativas en los valores de pH inicial y final, se observan modificaciones en el pH a través del tiempo en todos los sustratos (controles y tratamientos), siempre con valores cercanos a la neutralidad. Este comportamiento, particularmente en los sustratos experimentales con adición de guano y C+, sería atribuible al efecto regulador de los componentes orgánicos sobre los iones H del sustrato original (Rivero, 1999; Casanova, 1991; FAO, 1977), incluyendo la disminución de pH en T2, entregando un valor final más cercano a la neutralidad que el registro inicial. Cabe destacar la estabilidad presentada por C- en cuanto a los valores de pH, a pesar de la casi inexistencia de materia orgánica. Esta característica sería atribuible al alto contenido de Ca del relave y su consecuente efecto en el pH del sustrato.

Cuadro 4. Variación de las características químicas inicial y final del agua de poro en los sustratos control y experimentales. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos.

Tratamiento	pH inicial	pH final	CE inicial	CE final
			(dS/m)	(dS/m)
C+	7,54 de	7,46 cd	0,77 b	0,47 a
C-	7,3 bc	7,21 ab	2,53 c	2,36 c
T1	7,2 ab	7,05 a	8,35 ef	6,04 d
T2	7,4 bcd	6,99 a	8,34 ef	6,66 de
T3	7,75 e	7,6 de	8,79 f	7,45 def

*, Código de los tratamientos según el cuadro 1. CE: conductividad eléctrica.

En cuanto a la CE, los análisis de varianza de dos vías mostraron diferencias significativas entre tratamientos ($F: 412,06$, $p: < 0,05$), y en el tiempo ($F: 25,57$, $p: < 0,05$) pero no en la interacción tratamientos x tiempo ($F: 2,15$, $p: 0,1121$). Las diferencias entre tratamientos son atribuibles a los distintos materiales y proporciones

de estos que fueron utilizados para la formulación de los sustratos experimentales. En cuanto a la variación de CE en el tiempo, si bien las macetas fueron sometidas a riego continuo, este no fue el suficiente para generar un lavado de sales. Esta variación de CE podría ser atribuible al efecto regulador de la materia orgánica adicionada y a la alta CIC del ripio de lixiviación adicionado. Esto queda de manifiesto en la variación estadísticamente significativa presente en T1, el tratamiento con mayor proporción de ripio de lixiviación.

Es interesante destacar que, aunque el contenido total de Cu de C- (relaves) mostró valores 2 órdenes de magnitud mayores que el del suelo C+ (Cuadro 3), las diferencias a nivel de cobre iónico en el agua de poro son mucho menores (Figura 5). Esto indica que la solubilidad del cobre contenido en los relaves es más bien baja. Los análisis de varianza de dos vías para esta variable respuesta mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ($F = 21,33$ $p < 0,05$), pero no en el tiempo ($F = 0,82$, $p = 0,3751$) ni para la interacción tratamientos x tiempo ($F = 1,10$, $p = 0,3827$).

Estos resultados indican que la aplicación de guano de cabra como enmienda orgánica sobre relaves mineros abandonados posiblemente implica una modificación en la actividad iónica de Cu en comparación con un relave minero sin enmienda orgánica. Por otra parte, la aplicación de rípios de lixiviación también parece tener relevancia en la actividad iónica de Cu por lo menos durante las 5 semanas que se mantuvieron los ensayos. A pesar de esto, no se observan variaciones de este parámetro en el tiempo de experimentación, para los distintos tratamientos evaluados. Posiblemente un mayor tiempo de experimentación permitiría generar resultados que indiquen con mayor detalle las diferencias generadas en la actividad iónica de este elemento.

Caben destacar los estudios de Martínez y McBride (1999), Kiiikkila (2003) y Ruttens *et al.* (2006), donde sugieren que la adición de materia orgánica a los suelos puede aumentar la cantidad de ligandos orgánicos solubles, los cuales permiten formar complejos órgano-metálicos de baja solubilidad. Este aumento de ligandos orgánicos puede significar un aumento en la movilidad del Cu y de otros cationes metálicos en las aguas de poro, con el consecuente aumento de su solubilización y por ello, su disponibilidad para las plantas. Sin embargo, este aumento en la movilidad de los cationes metálicos puede verse contrarrestado por la alta capacidad de intercambio catiónico medida en todos los tratamientos (Cuadro 3). Si bien, como se menciona anteriormente, el relave utilizado presenta una alta CIC, y en menor medida, también los rípios de lixiviación, cabe mencionar el posible efecto provocado por la enmienda orgánica utilizada, al aportar bases de intercambio que desplazan los iones H^+ de los sitios de intercambio, aumentando por ende la saturación de bases (Aravena *et al.*, 2007) y fomentando la creación de más sitios de intercambio, los que implican mayor capacidad del sustrato para adsorber e inmovilizar los iones metálicos presentes (Silveira *et al.*, 2003).

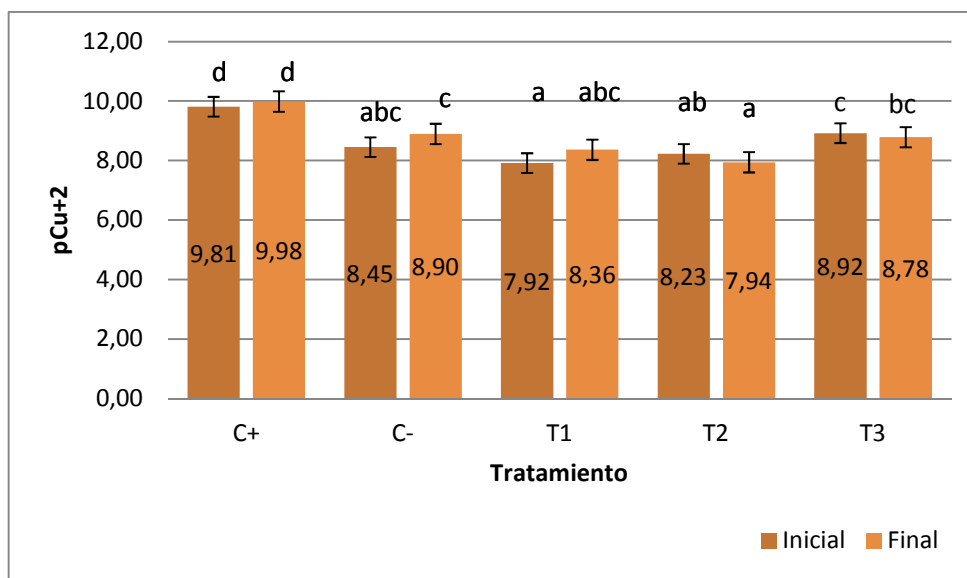


Figura 5: Variación de la actividad de cobre libre (pCu^{+2}) en agua de poro de los sustratos control y experimentales. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias estadísticamente significativas.

Desarrollo y generación de biomasa en la tuna

Biomasa aérea

La variación de peso en los cladodios originalmente trasplantados a los tratamientos experimentales se presenta en la Figura 6. Se observa que todos los cladodios aumentaron su biomasa húmeda, no existiendo diferencias significativas entre los tratamientos experimentales. Es probable que este aumento de peso se deba principalmente a la absorción de agua desde el sustrato de parte del cladodio (hidratación), ya que deben haber perdido agua al ser secados al aire durante quince días antes de su trasplante.

Además de la ganancia de peso del cladodio originalmente trasplantado a los sustratos experimentales, se observó generación de biomasa (flores/frutos y nuevos cladodios) en los tratamientos a lo largo del estudio (Cuadro 5). Sin embargo, sólo en C+ se produjo nueva formación de biomasa aérea en las 6 repeticiones; en los tratamientos y C-, no más de dos repeticiones por sustrato lograron generar biomasa a lo largo del estudio. Cabe destacar la generación de estructuras reproductivas en todos los tratamientos y en C-. Este comportamiento puede ser atribuible a la respuesta de las especies vegetales sometidas a un estrés, frente al cual es fomentada la formación de estructuras reproductivas.

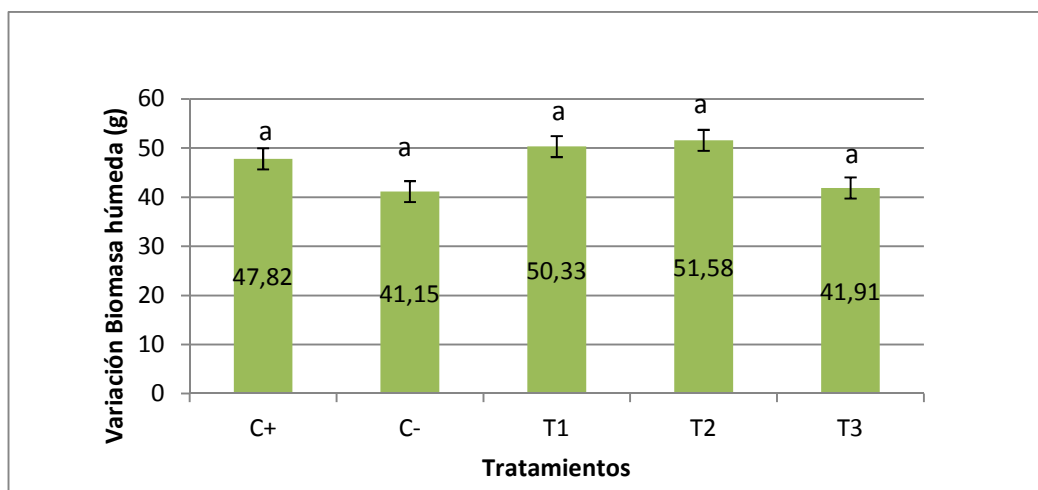


Figura 6. Variación de peso húmedo de los cladodios originales trasplantados a los tratamientos experimentales. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto a la baja generación de nueva biomasa de parte de los tratamientos en comparación con C+, este comportamiento se ha visto reflejado en otros estudios donde, más que la inhibición del crecimiento, existe un retraso de este frente a un sustrato con alta concentración de metales o con otros parámetros que impongan estrés a las plantas, como salinidad¹. Otros estudios revelan que existe una disminución en la altura de las plantas y el número de hojas en *Lupinus uncinatus* luego de la emergencia de este en sustratos con alta presencia de cadmio, además de una disminución significativa en el rendimiento inmediato de materia seca de esta especie (Ehsan *et al.*, 2009). Rodríguez-Elisalde *et al.* (2010) indican una disminución en el contenido de clorofila de tres especies ornamentales establecidas sobre sustratos contaminados con residuos de mina. Este factor influye directamente en la producción de biomasa, al limitar el proceso de fotosíntesis en las especies indicadas. Así también, Xiong (1998) observó que altas concentraciones de Pb (500 y 1000mgL⁻¹) no disminuyeron la biomasa total de *B. pekinensis* Rupr. Al contrario de esto, en *Brassica rapa* L., el peso fresco y la biomasa total disminuyeron en 100 y 45% con respecto al testigo, respectivamente, cuando esta creció en suelos contaminados con residuos de minas que contenían 8,2 de Cd; 255 Mn; 209 Pb; 97 Zn; y 3,1 de Be (en mg kg⁻¹) (Loureiro *et al.*, 2006).

Por otro lado, la tasa de crecimiento que presentaron los tratamientos (0,5 g por día aprox.) concuerdan con lo expuesto por Guevara *et al.* (1997), donde se registró el rendimiento de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. establecida sobre un piedemonte degradado cercano a la ciudad de Mendoza. Estos rendimientos son en promedio 180 g por planta en el transcurso de un y medio ciclo de crecimiento. Indican también que la incorporación de guano de cabra al sitio en estudio incrementó los rendimientos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. a un promedio de 210 g por planta en un y medio ciclo de crecimiento.

¹Rosanna Ginocchio; Comunicación personal, 2011.

Cuadro 5. Generación de nueva biomasa aérea en los cladodios originalmente trasplantados a los ensayos experimentales.

Tratamiento	Biomasa (g)	Nº réplicas	Estructura
C+	170	6	Vegetativa
C-	52	1	Reproductiva
T1	46	1	Reproductiva
T2	138	2	Vegetativa
T3	94	2	Vegetativa/Reproductiva

Nº Réplicas: Número de repeticiones con generación de nueva biomasa aérea

Otro factor importante en el desarrollo normal de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. es la salinidad del sustrato en que se establece. La salinidad afecta la fisiología y reduce la productividad de las especies agrícolas. A pesar del metabolismo modificado que presenta la especie en estudio (CAM), de todas maneras se ve afectada por el contenido de sales, ya que este metabolismo es una adaptación para la escasez de agua y no para el exceso de sales (Lüttge, 2004). Se reporta una disminución del 50% del crecimiento de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. a concentraciones de 25 mol m^{-3} y una acumulación de Na^+ en el sistema radical, en conjunto con una limitada movilización a la parte aérea (Berry y Nobel, 1985; Nerd *et al*, 1991). Nerd *et al* (1991) indican que la absorción de CO_2 y el ajuste osmótico aparentemente se ven afectados bajo estrés salino. Diversos trabajos con *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. muestran que el crecimiento, evaluado como biomasa seca, longitud, longitud de células corticales y área superficial radical, disminuye con el aumento de la salinidad (Gersani *et al*, 1993; Murillo-Amador *et al*, 2001). Sin embargo, es posible que el efecto de la salinidad en las especies cultivadas afecte la capacidad de absorción de agua debido a la disminución del potencial osmótico de la solución suelo (Bernstein, 1975) y no genere una toxicidad directa.

Las diferencias de peso final y la producción de biomasa aérea entre los tratamientos experimentales (Cuadro 6) serían atribuibles al tamaño del cladodio trasplantado en cada tratamiento. Mondragón-Jacobo (1992) indica que el número y tamaño de los cladodios producidos durante el primer año de crecimiento en campo se correlacionan en forma directa con el tamaño del cladodio madre. Así también la producción de biomasa aérea se relaciona directamente con el índice de área foliar del cladodio madre (Hank y Felker, 1997).

Cuadro 6. Biomasa inicial (Bm I), biomasa generada (Bm G), ganancia de peso del cladodio original (G P) y biomasa final (Bm F) promedio en todos los tratamientos y ambos controles.

Sustrato	Bm I	Bm G	G P	Bm F
	(g)			
C+	636,98	170,28	47,82	855,08
C-	649,83	52,30	41,15	743,28
T1	579,50	46,48	50,33	676,31
T2	666,15	137,97	51,58	855,70
T3	650,35	94,32	41,91	786,58

Además de lo comentado anteriormente, la marcada diferencia de producción de biomasa entre T1 y T2 puede ser atribuible a la distinta proporción relave: rípio de lixiviación con que fueron preparados estos sustratos. Sin embargo, el peso inicial promedio de los cladodios en T2 es superior a los cladodios trasplantados en T1 por aproximadamente 100 g aproximadamente. Cabe mencionar que los cladodios con mayor generación de biomasa aérea (C+, T2 y T3) fueron los que desarrollaron nuevos cladodios, y los con una menor generación de biomasa aérea (C-, T1), desarrollaron flores y frutos.

Biomasa Radical

La generación de biomasa radical en los tratamientos y controles se presenta en la Figura 7. El análisis estadístico indica diferencias significativas entre los tratamiento. Específicamente, la mayor generación de biomasa radical ocurrió en C+. Sin embargo, T1 y T3 presentan resultados estadísticamente similares. La menor generación de biomasa radical se presenta en C-, y T2 presenta resultados estadísticamente similares a C-.

El menor desarrollo de biomasa radical en los tratamientos versus C+ puede estar regido por la salinidad presente en los sustratos experimentales (Figura 8). Franco-Salazar y Véliz (2008) indican que, a medida que aumenta la salinidad en el sustrato, las raíces generadas son menos abundantes, poco ramificadas, oscuras, y con ápices necrosados, situación que se observó también en los cladodios en estudios, en comparación con C+. Afirman también que a niveles muy altos de salinidad (sobre 100 mol m^{-3} de NaCl en hidroponía) las raíces presentan deformaciones y abultamientos.

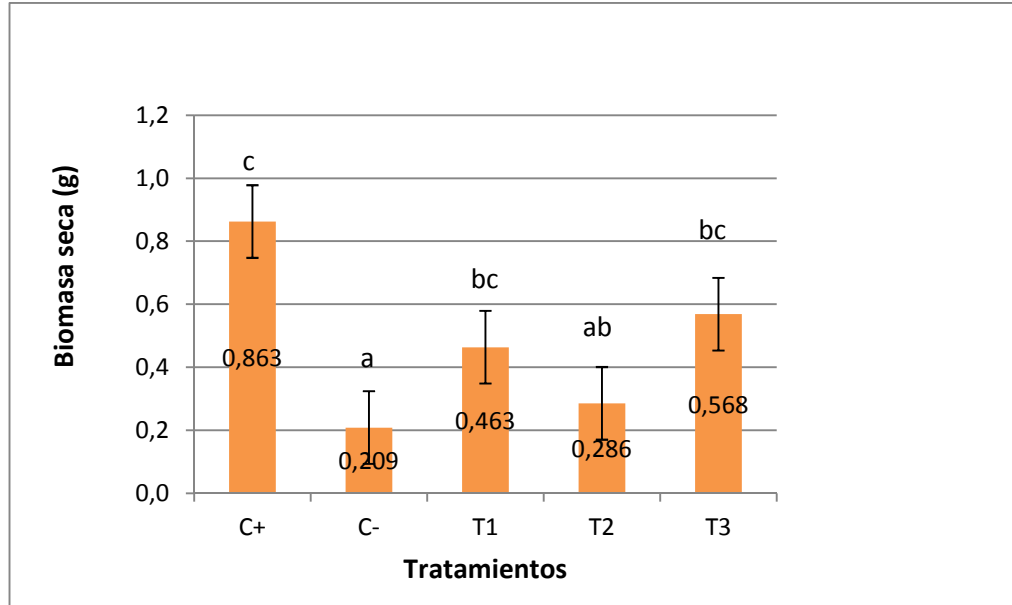


Figura 7. Generación de biomasa radical por sustratos en peso seco. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias estadísticamente significativas.



Figura 8: Raíz deforme correspondiente al tratamiento T1.

Otros estudios también han demostrado que la alta salinidad disminuye varios parámetros de crecimiento en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., como longitud radical, crecimiento y producción de nuevos cladodios (Gersani *et al.* 1993; Murillo-Amador *et al.* 2001). Se ha contabilizado una disminución de hasta un 44% de desarrollo radical en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en medio salino frente a un control en hidroponía (Franco-Salazar y Véliz 2008). Este comportamiento se puede relacionar con una disminución de la longitud radical fomentado por el efecto osmótico, tóxico y/o a la inhibición de absorción de nutrientes para la producción de biomasa, todo esto

ocasionado por la concentración de sales en el medio, reacciones características de plantas sensibles al estrés salino (Yeo y Flower, 1980).

Por otro lado, la aplicación de guano de cabra y rípios de lixiviación en los tratamientos implica un cambio cualitativo en la respuesta de las raíces frente a C-. Específicamente, los sustratos con adición de guano y rípio presentan raíces más claras, con menos meristemas necrosados y con menos abultamientos, a pesar de los efectos negativos de la salinidad mencionados anteriormente (Figura 9). Zúñiga *et al* (2009) indican en sus investigaciones con *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. que la aplicación de estiércol bovino (100 t ha^{-1}) implicó la mayor generación de biomasa aérea y radical, y que esta última se genera principalmente (96%) en los primeros 18 cm de profundidad. También indican que, mientras más alejado de la base del cladodio sea la aplicación de estiércol, mayor será la longitud de las raíces. Esta respuesta se explica por el fenómeno de quimiotropismo, por lo cual la planta generó raíces más largas para alcanzar el estiércol aplicado. Sin embargo, no se evidenciaron diferencias significativas en la longitud de raíces para distintas dosis de estiércol de bovino y fertilización mineral (Zúñiga *et al* 2009). Además de esto, cabe destacar la respuesta radicular, en cuanto al diámetro de estas, a la aplicación de estiércol de bovino. Estudios muestran que, a mayor profundidad de aplicación del estiércol (100 t ha^{-1}), mayor es el diámetro de las raíces que genera la *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (Zúñiga *et al* 2009). Así también, el porcentaje de enraizamiento se ve afectado por la fertilización, donde el mayor porcentaje de enraizamiento se observa en los testigos utilizados en el estudio de Zúñiga *et al* (2009), con diferencias significativas frente a la aplicación de 100 t ha^{-1} de estiércol de ovino entre 36 y 54 cm de profundidad.

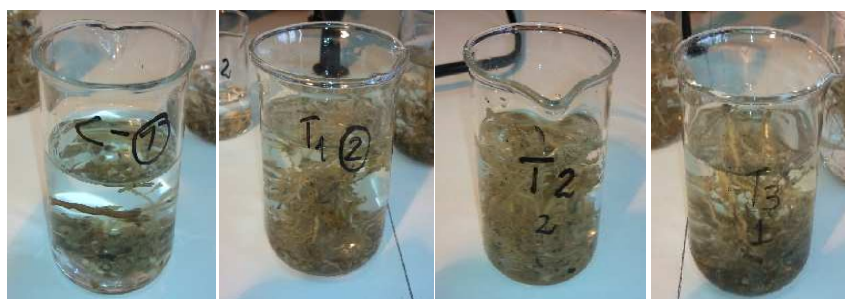


Figura 9: Raíces generadas en C- y T1, T2 y T3 respectivamente.

Zúñiga y Vázquez (1998) evaluaron la respuesta de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. bajo distintas dosis de nitrógeno, concluyendo que el inicio del crecimiento radical está en función de la cantidad de luz y la humedad existente en el sustrato, entre otras cosas. Tomando en cuenta este último dato, se puede inferir que la mayor generación de biomasa radical en C+ está influenciada por las características físicas del suelo usado como testigo. Al ser franco arenoso, presenta equilibradas características, como capacidad de retención de agua, espacio poroso, infiltración, etc., entregando condiciones ideales de crecimiento radicular. Al contrario de esta situación, el relave utilizado en los tratamientos presenta un pobre equilibrio en el tamaño de partículas, y tiene las características de una arena muy fina bastante compactada. Si bien la arena

presenta una alta velocidad de infiltración y una baja capacidad de retención de agua, el relave presenta una baja velocidad de infiltración, con una alta capacidad de retención de agua, pero con un limitado movimiento de este elemento en el volumen del sustrato, implicando un mojamiento y posible saturación en los primeros 10 cm de este.

Cabe destacar la relación inversa que se presenta entre el desarrollo radical y el rendimiento (Zúñiga *et al*, 2009), siendo concordante con los datos mostrados, donde T2 presentó la menor generación de biomasa radical frente a la mayor ganancia de peso y generación de biomasa aérea entre los tratamientos.

Contenido de metales en los tejidos

Contenido de metales en biomasa aérea

El contenido de Cu, Zn y Fe en los cladodios originales trasplantados y en las raíces generadas se muestra en las figuras 10, 11 y 12, respectivamente. Si bien existen diferencias en el contenido de Cu y Zn entre los cladodios, estas no son estadísticamente significativas. Esto indica que no hubo una traslocación importante desde el sustrato a los tejidos aéreos de la especie en estudio.

Diversos estudios indican que la respuesta de las plantas, en relación a la absorción de metales del sustrato, es variable y dependerá de cada especie (Rodríguez-Elisalde, 2010). *Brassica napus* acumula preferentemente Cd y Zn (Rossi *et al*, 2002); *Spartina marítima* acumula Fe, As, Pb y Cu (Figueroa-Clemente *et al*, 1999); *Trifolium repens* acumula Cd y Pb (Alcántara *et al*, 2001). En el caso de *Cosmos bipinnatus*, esta absorbe Pb, Cu y Zn en mayor medida que las otras dos especies estudiadas por Rodríguez-Elisalde *et al* (2010), la cuales absorbieron en mayor medida Cd. Así, existen muchos ejemplos de las distintas respuestas de cada especie frente a un sustrato o agua de riego con una alta concentración de metales.

Castillo *et al* (2006) indican que *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. acumula metales de manera diferenciada. En particular, el estudio define que la acumulación de As, Cd, Cr y Pb está en directa relación con el contenido de estos metales en el agua de riego aplicada. Sin embargo, al parecer no existe una acumulación excesiva de Zn y Fe cuando se utiliza agua de riego rica en estos elementos. Así también, Zúñiga *et al* (2009) indican que la concentración de Cu en frutos de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., a diferentes dosis de fertilización mineral y estiércol de bobino, varía entre 14 y 18 mg kg⁻¹. Esto es concordante con los resultados obtenidos en este estudio, donde no se observan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos y testigos. Gurrieri *et al* (2000) han encontrado un alto contenido de Mg y cantidades discretas de Fe y de Zn en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill..

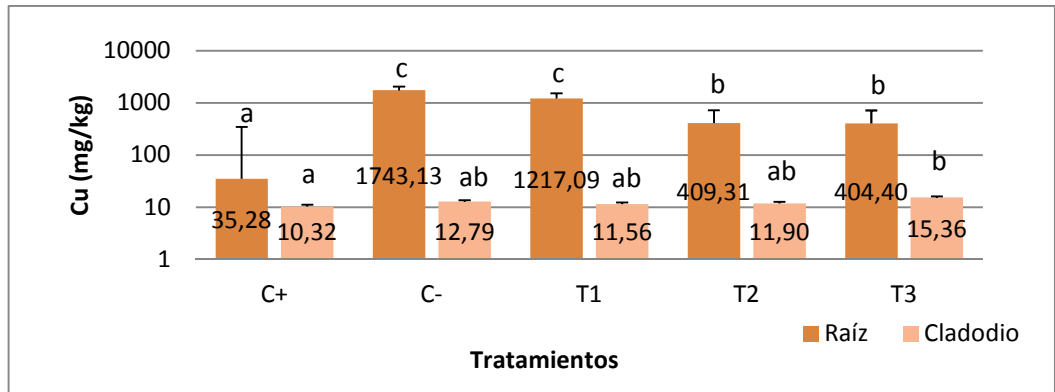


Figura 10. Contenido de Cu (en mg/kg) en cladodios y raíces. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias estadísticamente significativas.

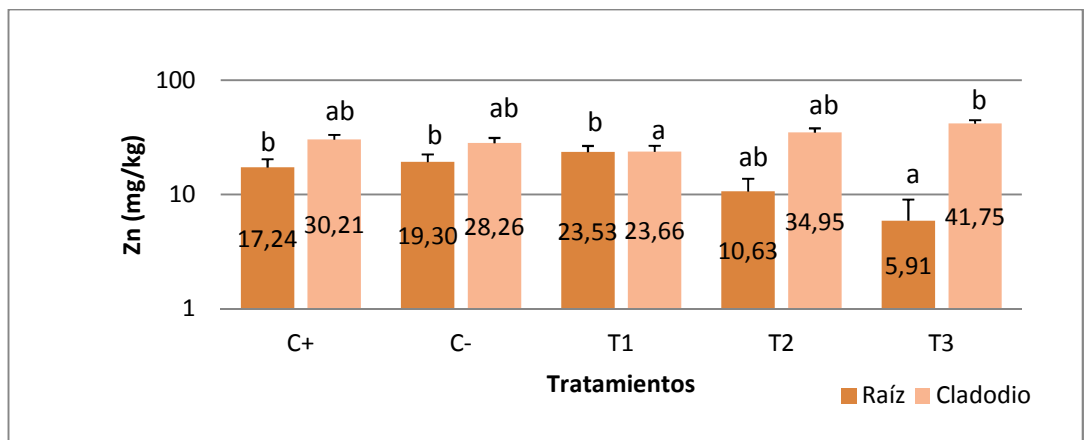


Figura 11. Contenido de Zn (en mg/kg) en cladodios y raíces. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias estadísticamente significativas.

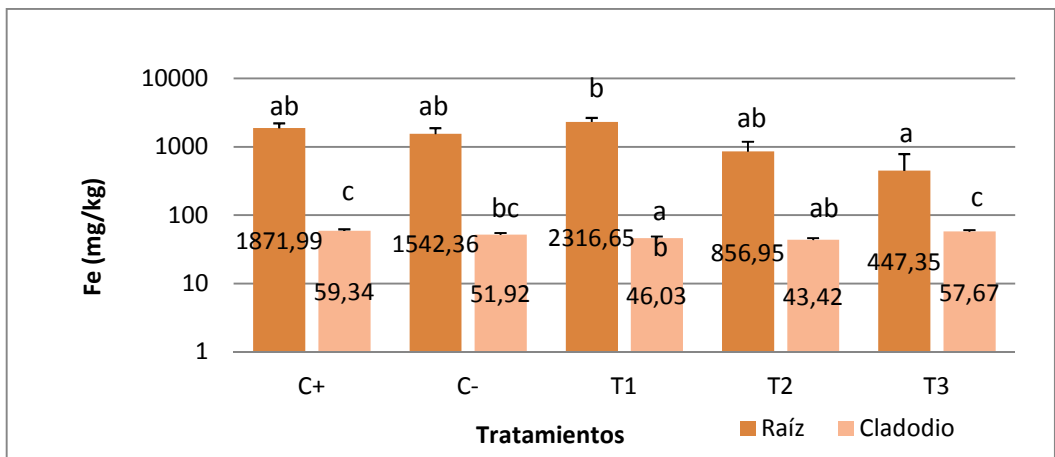


Figura 12. Contenido de Fe (en mg/kg) en cladodios y raíces. Letras distintas entre tratamientos indican diferencias estadísticamente significativas.

Cabe destacar la alta concentración de Fe en la especie en estudio, particularmente en C+, en comparación con los otros elementos analizados. Este alto valor basal posiblemente influya en la baja absorción de este elemento desde sustratos con una alta

concentración de Fe. Es importante mencionar los altos valores alcanzado por T3 en todas las mediciones. Esto se puede atribuir a la mayor influencia del guano de cabra sobre la especie en estudio, ya que este tratamiento no presenta adición de ripio de lixiviación. Zúñiga *et al* (2009) sostienen que la aplicación de estiércol de bovino fomenta una mayor absorción y concentración de microelementos en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Sin embargo, los contenidos de Fe mostrados no sobrepasan los indicados por Zúñiga *et al* (2009), los cuales se mueven en un rango de entre 130 a 180 mg kg⁻¹, luego de establecer *Opuntia ficus-indica* bajo diferentes niveles de fertilización.

En cuanto a las concentraciones límites permitidas en alimentación animal en particular, la AAFCO (1996) clasifica estos elementos en altamente tóxicos, tóxicos, moderadamente tóxicos y ligeramente tóxicos (Cuadro 7). Utilizando esta clasificación como referencia, los resultados obtenidos en los cladodios analizados están dentro del rango permitido para ser utilizados como alimentación animal.

Cuadro 7. Niveles máximos recomendados de metales en alimento para animales (AAFCO, 1996).

	Nivel máximo	Metal
Categoría	mg/kg	
Altamente tóxico	10	Cadmio, Mercurio, Selenio
Tóxico	40	Bario, Cobre, Plomo, Molibdeno, Tungsteno, Vanadio
Moderadamente tóxico	400	Antimonio, Arsénico, Yodo, Níquel
Ligeramente tóxico	1000	Aluminio, Boro, Bromo, Bismuto, Cromo, Manganeso, Zinc

La concentración de metales en los tejidos nuevos generados por los cladodios se presenta en el Cuadro 8. En cuanto a la acumulación de Cu, esta es mayor en todos los tratamientos respecto a C+ y C- lo que indicaría una influencia de la aplicación de guano frente a la absorción de este elemento, como lo indica Zúñiga *et al* (2009), particularmente en las primeras etapas de desarrollo. Sin embargo es necesario mencionar la consecuente dilución mineral que ocurre con el normal desarrollo de los tejidos. En consecuencia, es esperable una disminución en la concentración de metales en los tejidos analizados a través del tiempo. La mayor concentración de Cu se observa en T1 y T2, mientras que en T3 los resultados obtenidos son muy similares a los

encontrados en C-. Esta situación indicaría una posible influencia del ripio de lixiviación en la absorción de este elemento. En cuanto al contenido de Zn, este se presenta similar en todos los tratamientos y en los controles, siendo concordante con la presencia de este elemento en los cladodios originales. Al parecer la traslocación de este elemento a los tejidos nuevos no se ve afectada por los contenidos de Zn en el sustrato, ni tampoco por el acondicionador orgánico utilizado. En cuanto al contenido de Fe, este es muy superior en C+ respecto a los otros sustratos utilizados. Probablemente es necesario un mayor tiempo de crecimiento y desarrollo de tejidos nuevos para obtener resultados concluyentes respecto a este elemento.

Cuadro 8. Contenido promedio de Cu, Zn y Fe en los tejidos aéreos nuevos generados.

Elemento	Sustrato					
	mg/kg	C+	C-	T1	T2	T3
Cu		15,82	18,84	30,65	42,55	21,82
Zn		38,96	37,11	43,82	37,65	40,62
Fe		97,74	39,43	39,22	34,60	37,75

Es importante mencionar los estudios realizados por Ginocchio *et al* (2001), donde analizaron el contenido de cobre en *Lycopersicon esculentum* y *Allium cepa*, ambas cultivadas en suelos con altos contenido de cobre, y cultivando estas también en un suelo con bajo contenido de cobre a modo de comparación. Los resultados no mostraron diferencias significativas en el contenido de cobre en las estructuras comestibles de las especies estudiadas, y estaban dentro del rango catalogado como normal en la literatura para suelos no contaminados. En cuanto a las estructuras no comestibles, estos presentaron un mayor contenido de cobre en comparación con el testigo, aunque sin muestras de toxicidad por este elemento.

Contenido de metales en biomasa radical

Se observan diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos y controles en cuanto al contenido de Cu (Figura 10). T1 presenta el mayor contenido junto a C-. Posiblemente la mayor cantidad de ripio de lixiviación agregado al sustrato experimental influyó en la absorción de este elemento. Sin embargo, no se puede descartar que este mayor contenido de metales en los tejidos radicales se deba a contaminación externa de los tejidos.

En el Cuadro 9 se presentan los contenidos de diversos metales observados en algunas especies “hiperacumuladoras” (Ortega *et al*, 2009). Este término fue utilizado por primera vez por Brooks *et al* (1977) (citado por Ortega, 2009) al definir una planta “hiperacumuladora” como aquella que presentaba más de 1000 mgkg^{-1} de cobre en sus tejidos. Diversos estudios afirman que este comportamiento responde a la necesidad de ciertas especies para limitar el herbivorismo y la patogénesis (Poschenrieder *et al*, 2006; citado en Ortega *et al*, 2009).

Cuadro 9. Rendimiento y acumulación de metales en algunas especies “hiperacumuladoras”. Fuente: Ortega *et al*, 2009.

Elemento	Especie	Concentración mg/kg	Biomasa t/ha año
Cd	<i>Thlaspica erulescens</i>	3000	4
Co	<i>Haumani astrum</i>	10200	4
Cu	<i>H. katangense</i>	8356	5
Pb	<i>Thlaspiro tundifolium</i>	8200	4
Mn	<i>Macadamia neurophylla</i>	55000	30
Ni	<i>Alyssum bertolonii</i>	13400	9
	<i>Berkheya coddii</i>	17000	18
Se	<i>Astragalus pattersoni</i>	6000	5
Ta	<i>Iberis intermedia</i>	3070	8
Zn	<i>Thalaspica laminare</i>	10000	4

Si bien la disponibilidad de los metales para las plantas en un sustrato depende de diversos factores químicos, los principales son el pH, el contenido de materia orgánica y el contenido total de metales (Martínez y McBride, 1999). Observando los resultados anteriormente presentados, es de esperar que, a pesar de los altos contenidos de cobre en los sustratos, el pH neutro y el contenido de materia orgánica en los sustratos impidan una traslocación excesiva desde el sustrato a la planta.

Respecto a la acumulación de Cu, ningún tratamiento ni control presentó señales de toxicidad en su parte aérea, pero si algunos meristemas radiculares necrosados lo que es un indicio de toxicidad por metales (Figura 13).



Figura 13: Detalle de raíz con meristemas necrosados pertenecientes a T1.

Al observar los resultados anteriormente expuestos en cuanto al contenido de Cu en la parte aérea, no se observa una traslocación de este elemento. De hecho, en T3 la relación entre el contenido de Cu en la parte aérea versus la concentración de este elemento en las raíces parece ser inversa. Los datos mostrados permiten inferir una alta capacidad radical de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. para acumular Cu, pero es necesario

realizar ensayos de una mayor duración para evaluar los efectos finales de esta concentración de Cu en las raíces.

El contenido de Zn en las raíces no presenta diferencias significativas entre tratamientos y controles (Figura 11). Solo T3 presenta un menor contenido general de Zn. La relación con el contenido de este elemento en la parte aérea también es inversa para este tratamiento.

Según Prieto *et al.*, (2009) la absorción de metales biodisponibles por las plantas es diferente para cada elemento, y presentan una distinta capacidad para traspasar la barrera suelo-raíz-planta. Específicamente, el Mn presenta una mayor capacidad para ser absorbido por la planta, seguido del Zn, Cd, Cu y finalmente, el menos biodisponible, el Pb. Esta escala concuerda con los resultados presentados, los cuales indican una mayor acumulación de Zn en la parte aérea en comparación con el Cu, a pesar de la mayor concentración de este elemento en el sistema radical de los cladodios estudiados.

La acumulación de Fe en las raíces presenta un comportamiento similar al observado para Zn (Figura 12). Solo T1 y T3 se diferencian entre sí, al presentar el valor más alto y más bajo respectivamente, pero sin diferenciarse significativamente de los controles. Al parecer, la gran acumulación natural de Fe en las plantas permite que estas se desarrollen en medios con un alto contenido de este metal, y probablemente este elemento puede ser oxidado fuera de la endodermis (Smolders y Roelofs, 1996; citado por Orchard, 2008) por lo cual no causaría toxicidad a estos niveles de concentración.

Algunas especies pueden ver afectado su desarrollo radical cuando se exponen a altas concentraciones de metales, ya que es el primer órgano expuesto a esta condición (Rodríguez-Elisalde *et al.* 2010). Se han registrado disminuciones de un 37% hasta un 72% en la longitud de raíces en *Sesamun indicum L.*, *Sinapsis alba L.* y *Lactuca sativa L.* frente a la presencia excesiva de metales en el sustrato (Carlson *et al.* 1991). Así también, Xiong (1998) reportó un 99% de reducción en la longitud de raíz *Brassica pekinensis* Rupr. al utilizar una solución 100mgL^{-1} de Pb. En la misma línea investigativa, Panou-Filotheou *et al.* (2001) indican una disminución en la longitud de la raíz de *Origanum vulgare L.* establecido en suelos con un alto contenido de Cu.

Si bien son escasos los estudios de cactáceas con fines de fitorremediación, se han llevado a cabo programas de estabilización con especies suculentas junto a poáceas y leguminosas en el sur de Arizona, EUA, las cuales fueron capaces de controlar la erosión hídrica y eólica en el sector mencionado (Orchard, 2008).

CONCLUSIONES

Las aplicaciones de guano de cabra como acondicionador orgánico y de ripio de lixiviación como acondicionador inorgánico lograron un aumento en la capacidad de enraizamiento de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. sobre relaves mineros. En cuanto al desarrollo aéreo de la especie en estudio, si bien existieron diferencias entre controles y tratamientos, no es posible afirmar que la aplicación de estas enmiendas se traduce en una mayor producción de biomasa aérea.

Opuntia ficus-indica (L.) Mill. presenta una disminución inicial en el desarrollo de nuevas estructuras en sustratos con alto contenido de sales y metales, particularmente en C- y T1, además de cierta evidencia de toxicidad por sales y metales en su sistema radicular, pero no evidencia síntomas de toxicidad por estos elementos en su parte aérea. Es por esto necesario realizar estudios con un mayor tiempo de crecimiento para definir los efectos finales del contenido de sales y metales en el sustrato, en el desarrollo radicular y aéreo de esta especie.

En cuanto a la absorción de metales, el guano de cabra y el ripio de lixiviación como acondicionadores disminuyen la biodisponibilidad de estos, disminuyendo su traslocación a órganos y estructuras aéreas, sin embargo, no parecen ser muy efectivos en cuanto a la disminución de la absorción de Cu en las raíces, observado en el elevado contenido de este metal en la biomasa radical de los tratamientos versus el control positivo. Sin embargo, no se puede descartar que este mayor contenido de metales en los tejidos radicales se deba a contaminación externa.

Es recomendable realizar ensayos de esta misma naturaleza bajo condiciones de campo, donde los problemas de salinidad en el sustrato no serán tan relevantes como lo son en ensayos en laboratorio, más aún en macetas. Así también es necesario evaluar la respuesta de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. durante un mayor tiempo para así generar respuestas más certeras en cuanto a su desarrollo y capacidad productiva. Sin embargo, es posible afirmar, basándose en los resultados, que *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. puede establecerse, en primera instancia, sobre relaves mineros acondicionados.

BIBLIOGRAFÍA

Adriano, D. C. 2001. Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals (2nd ed.) Springer – Verlag, New York, USA. 867p.

AAFCO (1996) Association of American Feed Control Officials. Official Publication. p: 230. American Academy of Pediatrics (1996) Pediatrics 97(3): 413-416.

Alcántara E., Barra R., Benlloch M., Jorrín J.V., Lora A., Pujada A., Requejo R., Romeral J., Roso J., Sancho E.D., y Tena M. 2001 Estudios orientados al desarrollo de técnicas de descontaminación metálica, mediante fitoextracción inducida y continua, de los suelos afectados por el vertido de las minas de Aznalcóllar. E.T.S. Ingenieros Agrónomos y Montes, Universidad de Córdoba, España.

Allen, H. E. 1997. Importance of speciation of metals in natural waters and soils to risk assessment. In: Proceedings of the International Workshop on Risk Assessment of Metals and their Inorganic Compounds. International Council on Metals and the Environment, Ottawa, Canada. p. 141-157.

Alloway, B. J. (ed.). 1990. Heavy metals in soils. Blackie Academic & Professional. USA and Canada. 339 p.

Aravena, C., Valentin, C., Diez, M., Mora, M. y Gallardo, F. 2007. Aplicación de Lodos de Planta de Tratamiento de Celulosa: Efectos en algunas propiedades físicas y químicas de suelos volcánicos. Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal. 7 (1):1- 14.

Baran, E. J. 1995. "Química bioinorgánica". McGraw-Hill. Madrid, España.

Bell, L.C. 1999. A multidisciplinary approach to producing solutions for sustainable mine rehabilitation - the role of the Australian centre for mine site rehabilitation research. Pages 3-11. In: M.H. Wong, J.W.C. Wong, and A.M.J. Baker (eds.). Remediation and Management of Degraded Lands. CRC Press LLC. Florida, USA.

Bernstein, L. 1975. Effects of salinity and sodicity on plant growth. Annual Review of Phytobiology 13: 295-312.

Berry, W.; Nobel, P. 1985. Influence of soil and mineral stresses on cacti. J. Plant Nutr. 8:679-696.

Berti, W.R. and Cunningham, S.D. Phytostabilization of metals. In: I. Raskin and B.D. Ensley eds. Phytoremediation of toxic metals: using plants to clean-up the environment. New York, John Wiley & Sons, Inc., 2000, p. 71-88.

Carlson, L. C., Adriano, D. C., Sajwan, S. K., Abels, L. S., Thoma, P. D., Driver, T. J. 1991 Effects of selected trace metals on germinating seeds of six plant species. Water, Air and Soil Pollution. 59:231-240.

Casale JF, Ginocchio R y León-Lobos P. 2011. Fitoestabilización de depósitos de relaves en Chile. Guía N° 4: Marco ambiental y relaves mineros abandonados en la Región de Coquimbo. CIMM & INIA-Intihuasi, Santiago. 82p.

Casanova, E. 1991. Introducción a la Ciencia del Suelo. UCV. Facultad de Agronomía. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas. 115p.

Castillo, A., Netzahual, M., Pérez, F., y Guevara, J. 2006. Estudio de la absorción de metales pesados por la planta de nopal *Opuntia ficus-indica* Mill. Laboratorio de Investigación en Bioinorgánica y Biorremediación (LIByB). Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. México.

Chiu, K. K., Z. H. Ye and M. H. Wong. 2006. Growth of *Vetiveria zizanioides* and *Phragmites australis* on Pb/Zn and Cu mine tailings amended with manure compost and sewage sludge: a greenhouse study. *Bioresour Technol* 97: 158-170.

CIMM, 2007. Fitoestabilización de relaves: Metales atrapados en una raíz. Centro de Investigación Metalúrgica y Minera. Santiago, Chile. Disponible en <http://www.cimm.cl/noticias/18/Fitoestabilizaci%F3n+de+relaves%3A+Metales+atrapados+en+una+ra%EDz>. Leído el 8 de Junio 2011.

CIREN, 1996. Estudio Agrológico Región Metropolitana. Centro de Información de los Recursos Naturales. Publicación N° 115. ISBN Obra completa 956 - 7153 - 23 - x

Conesa, H. M., R. Schulín and B. Nowack. 2007. A Laboratory Study on Revegetation and Metal Uptake in Native Plant Species from Neutral Mine Tailings. *Water, Air and Soil Pollution* 183: 201-212.

Cotoras, D. 1996. La enfermedad de los relaves. *Revista Induambiente*, N° 20:26-27.

De la Iglesia, R., Castro, D., Ginocchio, R., Van der Lelie, D., y González, B. 2006. Factors influencing the composition of bacterial communities found at abandoned copper-tailings dumps. *Journal of Applied Microbiology*, 100: 537-544.

Dietz, A.C., and J.L. Schnoor. 2001. Advances in phytoremediation. *Environmental Health Perspectives* 109: 163-168.

Dlaby, N., Dold, B., Pfelfer, H-R., Hollger, C., Johnson, D.B., and Hallberg, K.B., 2007. Microbial communities in a porphyry copper tailings impoundment and their impact on the geochemical dynamics of the mine waste. *Environmental Microbiology*, 9: 298-307.

Dold, B. 2007. Biogeochemical processes in mine tailings with special focus on marine shore tailings deposits and their remediation. *Advanced Materials Research* 20-21:177-185.

Dold B. y Fontbote L. (2001). Element cycling and secondary mineralogy in porphyry copper tailings as a function of climate, primary mineralogy, and mineral processing. *J. Geochem. Explor.* 74, 3–55.

Ehsan, M., Santamaría-Delgado, K., Vázquez-Alarcón A., Alderete-Chavez, A., De la Cruz-Landero, N., Jaén-Contreras D. and Augustine Molumeli P. 2009. Phytostabilization of cadmium contaminated soils by *Lupinus uncinatus* Schldl. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. España.

FAO, 1997. China: Reciclaje de Desechos Orgánicos en la Agricultura. Boletín de suelos N° 40. Roma. 95p.

FAO. 2008. El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Biocombustibles: perspectivas, riesgos y oportunidades. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. pp. 11-25 ISSN: 0251-1371.

Figuroa-Clemente M. E., Luque-Palomo J. C., y Castillo-Segura J. M. (1999) Cultivo de especies de Brassicas en parcela experimental de la finca "El Vicario". Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. Depto. Biología y Ecología. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla.

Franco-Salazar, E., Véliz, J. 2008. Efectos de la salinidad sobre el crecimiento, acidez titulable y concentración de clorofila en *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Saber, Universidad de Oriente, Venezuela. Vol. 20. N° 1: 12-17.

Fuentes, F. R. 1971. Comportamiento de la Capacidad de Intercambio Catiónico en algunos suelos ácidos de origen volcánico. Tesis de Grado de Magíster. IICA-OEA. Turrialba, Costa Rica.

García, I. y Dorronsoro, C. 2004. Contaminación del suelo. Departamento de Edafología y Química Agrícola. Universidad de Granada, España. Disponible en <http://edafologia.ugr.es/conta/tema00/progr.htm>. Leído el 8 de Junio 2011.

García, L. 1997. Efecto de la incorporación de compost producido a partir de lodos residuales y subproductos sólidos de un agroindustria, sobre algunas propiedades físicas, químicas y de productividad de un suelo. Trabajo de Grado. Facultad de Agronomía. UCV, Maracay, Venezuela. 72 pp.

García, L. y Lobo, D. 2000. Efectos de la incorporación de compost sobre algunas propiedades de un inceptisol degradado de Venezuela, bajo cultivo de maíz (*Zea Mais l*). En Abstract 11° Conferencia de la Organización Internacional de la Conservación del Suelo. Buenos Aires, Argentina. 174 pp.

García de Cortázar, V. y Nobel, P.S. 1991. Prediction and measurement of high annual productivity for *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.. *Agricultural and Forest Meteorology*, 56: 261-272.

García de Cortázar, V. y Nobel, P.S. 1992. Biomass and fruit production for the prickly pear cactus *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 117: 558-562.

Gee, G. W. and J. W. Bauder. 1986. Particle-size analysis. In: G. W. Gee, J. W. Bauder and A. Klute. Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and Mineralogical methods. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America (2nded). Wisconsin, USA. p. 383-412.

Gersani, M.; Graham, E.; Nobel, P. 1993. Growth responses of individual roots of *Opuntia ficus indica* to salinity. PlantCellEnviron. 16:827- 834.

Ginocchio, R. 2004. Nueva tecnología: fitoestabilización para cierres de faenas mineras. Sustentare, Minería Chilena 21:1-4.

Ginocchio, R. 2008. Fitoestabilización de depósitos de relaves. Minería Chilena 322: 375-379.

Ginocchio, R., y León-Lobos, P. 2007. Recursos genéticos para la fitoestabilización: plantas que reducen la contaminación por desechos mineros. Tierra Adentro 75:20-23.

Ginocchio, R y León-Lobos P. 2011. Fitoestabilización de depósitos de relaves en Chile. Guía N° 1: Metodología general. CIMM & INIA-Intihuasi, Santiago. 82p.

Ginocchio, R. y Rodríguez, P. 2005. Incorporación de desechos y productos de la minería del cobre a suelos: biodisponibilidad y efectos sobre cultivos. Cobre, medio ambiente y salud, aportes de la ciencia, recopilación de investigaciones. 2005.

Ginocchio, R. y Santibáñez C; 2007. Fitoestabilización: Un aporte a la sustentabilidad ambiental minera supeditada al cambio climático global. Centro de Investigación Minera y Metalurgia (CIMM), 20 p

Ginocchio, R. Rodríguez y P. Torres, J.C.; 2001. Biodisponibilidad de metales y efectos ambientales del cobre en suelos agrícolas. Cobre, medio ambiente y salud, aportes de la ciencia, recopilación de investigaciones. 2005.

Goodman, G.T. 1974. Ecology and the problems of rehabilitating wastes from mineral extraction. Proceedings of the Royal Society A 339:373-387.

Green, D. 2001. Forestación de depósitos de relave abandonados presentación de caso: Depósito de relave ácido en alta montaña zona central de Chile. Santiago, Universidad de Chile. 156p.

Guevara, J., Martínez E., Juárez, M. C. y Berra, A. 1997. Reclamación de áreas degradadas del piedemonte de Mendoza, Argentina, mediante la plantación de *Opuntia ficus indica* f. *inermis*. Multequina 6: 1-8.

Gurrieri S., Miceli L., Lanza C.M., Tomaselli F., Bonomo R.P., y Rizzarelli E. 2000. Chemical characterization of Silician Prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) and perspectives for the storage of its juice. *J. Agric. Food Chem.* 48, 5424-5431.

Han, H. y P. Felker, 1997. Field validation of water-use efficiency of the CAM plant *Opuntia ellisiana* in South Texas. *Journal of Arid Environments* 36: 133-148.

Hatzmann, S., Ebert, G. y Lüdders, P. 1991. Influence of NaCl salinity on growth, ion uptake, and gas exchange of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. (L.) Miller. *Angewandte Bot.*, 65: 161-168.

Ho, G. E., M. K. S. A. Samaraweera and R. W. Bell. 1999. Direct revegetation of salt-affected gold ore refining residue: technology evaluation. In: *Remediation and management of degraded lands*. Edts. M. H. Wong, J. W. C. Wong and A. M. J. Baker. CRC Press LLC. Florida, USA. p. 123-135.

Hoffman, A. E. y H. Walter, 2004. *Cactáceas en la Flora Silvestre de Chile*. Segunda edición. Editorial Fundación Claudio Gay, Chile. Pp 272.

Honorato, R. 2000. *Manual de Edafología*. 4ª edición. Universidad Católica de Chile, Santiago. 267 p.

Jiménez, L. Larreal, M., Vargas, M. y González, R. 1999. Efectos de estiércol de bovino sobre algunas propiedades químicas de un Ultisol degradado en el área de Machiques-Colón, estado Zulia. En: *Memoria XV Congreso venezolano de la ciencia del suelo*. UCLA. Lara, Venezuela.

Kihanda, F. M., G. P. Warren and S. S. Atwal. 2004. The influence of goat manure application on crop yield and soil nitrate variations in semi-arid eastern Kenya. In: *Managing nutrient cycles to sustain soil fertility in sub-Saharan Africa*. Ed. A. Bationo. Academy Science Publishers (ASP). Nairobi, Kenya. p. 173-186.

Kiikkila, O. 2003. Heavy-metal pollution and remediation of forest soil around the Harjavalta Cu-Ni smelter, in SW Finland. *Silva Fennica* 37(3): 399-415.

Labrador, M., J. 1996. *La Materia Orgánica en los Agroecosistemas*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Mundi-Prensa, Madrid, España. pp. 67-78.

Lambert, M., Pierzynski, G., Hettiarachchi, G., Erickson, L. and Sweeney, D. 1999. Revegetation of heavy metal-contaminated mine tailings. *Proceedings of the 1999 Conference on Hazardous Waste Research*, 114-120.

Loureiro S, Santos C, Pinto G, Costa A, Monteiro M, Nogueira A, Soares A 2006 Toxicity assessment of two soils from Jales mine (Portugal) using plants: growth and biochemical parameters. *Arch. Env. Cont.Toxicol.* 50: 182-190.

Lüttge, U. 2004. Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Ann. Bot.* 93:629-652.

- Martín, T.A., and M. V. Ruby. 2004. Review of in situ remediation technologies for lead, zinc, and cadmium in soil. *Remediation Journal* 14:35-53.
- Martínez, C. and McBride, M. 1999. Dissolved and labile concentrations of Cd, Cu, Pb, and Zn in aged ferrihydrite-organic matter systems. *Environmental Science & Technology* 33 (5): 745–750.
- Méndez, M.O., and R.M. Maier. 2008. Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments - an emerging remediation technology. *Environmental Health Perspectives* 116:278-283.
- Méndez-Gallegos, S. de Jesús., D. Rössel, A. Amante-Orozco, A. Gómez-González y J. García-Herrera, 2010. El nopal en la producción de biocombustibles. VIII Simposium-Taller Nacional y 1er Internacional “Producción y Aprovechamiento del Nopal”. Colegio de Postgraduados, Campus San Luis Potosí, Iturbide # 73, Salinas de Hgo. SLP. C.P.78600. México.
- Mondragón-Jacobo, C., 1992. Efecto del tamaño de cladodio y fracción en la propagación de nopal forrajero y de verdura. México: INIFAP, SARH: Informe Técnico. CE-Norte de Gto.
- Morikawa, H y Erkin, O. 2003. “Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control”. *Chemosphere*, Volume 52, Number 9, September 2003 , pp. 1553-1558(6).
- Murillo-Amador, B.; Cortés-Avila, A.; Troyo-Diéguez, E.; Nieto-Garibay, A.; Jones, H. 2001. Effects of NaCl salinity on growth and production of Young cladodes of *Opuntia ficus-indica*. *J. Agron. CropSci.* 187:269-279.
- Nerd, A.; Karadi, A.; Mizrahi, Y. 1991. Salt tolerance of prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica*). *Plant Soil* 137:201-207.
- Nobel, P.S. 1988. *Environmental biology of agaves and cacti*. New York: Cambridge Univ. Press.
- Nobel, P.S. 1989. Productivity of desert succulents. *Excelsa*, 14: 21-28.
- Nobel, P.S. 1991. Achievable productivities of CAM plants: Basis for high values compared with C3 and C4 plants. *Tansley Review no. 32. New Phytol.*, 119: 183-205.
- Nobel, P.S. 1999. *Physicochemical and environmental plant physiology*. 2nd ed. San Diego, CA: Academic Press.
- Nobel, P.S., Russell, C.E., Felker, P., Galo, M. y Acuña, E. 1987. Nutrient relations and productivity of prickly pear cacti. *Agron. J.*, 79: 550-555.

Nobel, P.S. García-Moya, E. y Quero, E. 1992. High annual productivity of certain agaves and cacti under cultivation. *PlantCellEnviron.*, 15: 329-335.

Orchard, C. 2008. Valor agregado en la rehabilitación de depósitos de relaves mineros de la zona centro-norte de Chile con recursos fitogenéticos nativos. Tesis Magister en Recursos Naturales. Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Santiago, Chile. 93 p.

Ortega, H., Benavides, A., Arteaga, R., Zermeño, A. 2009. fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. *Temas Modernos de Nutrición Vegetal*. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A. C. Texcoco, México.

Panou-Filothéou AH, Bosabalidis AM, Karatalis S 2001 Effects of copper toxicity on leaves of oregano (*Origanum vulgare* sub sp. *hirtum*). *Ann. Bot.* 88: 207-214.

Piha, M. L, H. W. Vallack, B. M. Reeler, and N. Michael. 1995. A low input approach to vegetation establishment on mine and coal ash wastes in semi-arid regions. I. Tin mine tailings in Zimbabwe. *Journal of Applied Ecology* 32:372-381.

Prieto Méndez, J., González, C., Román, A. y Prieto, F. 2009. Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, Vol. 10, Núm. 1, sin mes, 2009, pp. 29-44. Universidad Autónoma de Yucatán. México.

Rachou, J., Gagnon, C. and Sauvé, S. 2007. Use of an ion-selective electrode for free copper measurements in low salinity and low ionic strength matrices. *Environmental Chemistry* 4: 90-97.

Rivero, C. 1999. *Materia Orgánica del Suelo*. Rev. Fac. de Agron. Alcance. Vol 57. 211p.

Rossi G., Figliolia A., Socciarelli S., y Penelli B. (2002) Capability of Brassica napusto Accumulate Cadmium, Zinc and Copper from Soil. *Acta Biotechnol.* 22(1-2), 133-140.

Rodríguez-Elizalde, M., Delgado-Alvarado, A., González-Chávez, M., Carrillo-González, R., Mejía-Muñoz, J. M., Vargas-Hernández, M. Emergencia y crecimiento de plantas ornamentales en sustratos contaminados con residuos de mina. *Interciencia*. Vol. 35. N° 1.

Ruttens, A., Mench, M., Colpaert, J., Boisson, J., Carleer, R. and Vangronsveld, J. 2006. Phytostabilization of a metal contaminated sandy soil. I: Influence of compost and/or inorganic metal immobilizing soil amendments on phytotoxicity and plant availability of metals. *Environmental Pollution* 144: 524-532.

Sadsawka, A., M. A. Carrasco, R. Grez y M. Mora. 2004. Métodos de análisis recomendados para los suelos chilenos. Comisión de normalización y acreditación (CNA), Sociedad chilena de la ciencia del suelo. 113p.

Sáenz, C., Berger, H., Corrales, G.J., Galletti, L., García, C.V., Higuera, I., Mondragón, C., Rodríguez, A.F., Sepúlveda, E. y Varnero, M.T., 2006. Utilización agroindustrial del nopal. Reimpresión. Boletín de servicios de la FAO. Roma, Italia.

Sánchez, L.E. 2002. Impactos sobre los ecosistemas. Páginas 322-331. En: F.L. Repetto y C.L. Karez (eds.). Notas de clases dictadas en el II curso internacional de aspectos geológicos de protección ambiental. Oficina Regional de Ciencia de la UNESCO para América Latina y el Caribe. Montevideo, Uruguay.

Sánchez, S. 1993. Efecto de los abonos orgánicos y la emulsión asfáltica sobre las propiedades físicas y químicas del suelo. En: Resumen XII Congreso venezolano sobre la Ciencia del Suelo. Guanare, Venezuela. 147 pp.

Santibáñez, C.C. 2006. Uso de biosólidos de plantas de tratamiento de aguas servidas y ballica para la fitoestabilización de tranques de relaves. Tesis de Doctorado en Ciencias Silvoagropecuarias y Veterinarias. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales, Universidad de Chile, Santiago, Chile. 103 p.

SERNAGEOMIN, 2007. Catastro de Faenas Minera Abandonadas o paralizadas y análisis preliminares de riesgo. Servicio Nacional de Geología y Minería, Santiago - JICA, Chile.

Silviera, M., Alleoni, L. and Guilherme, L. 2003. Biosolids and heavy metals in soils. *Scientiaagricola*. 60(4): 793-806.

Singh, O.V., S. Labana, G. Pandey, R. Budhiraja y R.K. Jain. 2003. Phytoremediation: An Overview of Metallic Ion Decontamination From Soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 61: 405-412.

Ting, L.P. 1985. Crassulacean acid metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 36: 595-622.

Tisch B, Zinck J and Vigneault B. 2008. Green mines green energy: establishing productive land on mine tailings. British Columbia Mine Reclamation Symposium 2008, British Columbia Technical and Research Committee on Reclamation, Canada.

Torres, J.C. 2002. Cobre, medio ambiente y salud. Una conexión vital. Comisión chilena del Cobre, COCHILCO, Santiago.

Troeh, F.R., Hobbs, J.B. and Donahue, R.L., 1999. Soil and water conservation, productivity and environmental protection. Third edition, Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J., USA, 610 p.

Uribe, J. M, Varnero, M. T y Benavides, C. 1992. Biomasa de tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) como acelerador de la digestión anaeróbica de guano de bovino. *Simiente*62 (1): 14 – 18.

US EPA. 1994. Methods for the Determination of Metals in Environmental Samples, Supplement 1. Environmental monitoring systems laboratory office of research and development U. S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio.

USDA. 1996. Soil survey laboratory methods manual. Soil survey investigations report N° 42, version 3.0. United States Department of Agriculture, National Resources Conservation Service. Washington DC, USA. 693p.

Varnero, T. M y V. García de Cortázar. 2006. Producción de bioenergía y fertilizantes a partir de los nopales. In: Utilización agroindustrial del nopal. Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO 162. pp. 113-120. ISBN: 92-5-305518-9.

Varnero, M. T. y García de Cortázar, V. 1998. Energy and biofertilizer production: alternative uses for pruning-waste of cactus-pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.). pp. 96-102. In: C.Sáenz, ed. Proceedings. International Symposium «Cactus pear and nopalitos processing and uses». Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile, FAO (International Technical Cooperation Network on Cactus pear. CACTUSNET-FAO).

Varnero, M. T. y López, X. 1996. Efecto del tamaño y edad de cladodios de tuna en la fermentación metanogénica de guano de bovino. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo, Boletín N° 11. 80 – 89.

Varnero, M. T., Uribe, J. M. y López, X. 1992. Factibilidad de una biodigestión anaeróbica con mezclas de guano caprino y cladodios de tuna (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.). Terra Aridae 11: 166 - 172.

Winter, K. 1985. Crassulacean acid metabolism. p.329-387, En: J. Barber & N.R. Baker (eds) Photosynthetic mechanisms and the environment. Amsterdam: Elsevier.

Xiong ZT 1998 Lead uptake and effects on seeds germination and plant growth in a Pb hyperaccumulator *Brassica pekinensis* Rupr. Bull. Env. Contam. Toxicol. 60: 285- 291.

Yeo, A.; Flowers, T. 1980. Salt tolerance in the halophyte *Suaedamaritima* L. Dum.: evaluation of the effect of salinity upon growth. J. Exp. Bot. 31:1171-1183.

Zhou, L. B., R. Van de Graaff, H. W. Dai, Y. J. Wu and L. N. Wall. 1999. Rehabilitation of copper mine tailings at Zhongtiaoshan and Tongling, China. In: Remediation and management of degraded lands. Edts. M. H. Wong, J. W. C. Wong and A. M. J. Baker. CRC Press LLC. Florida, USA. p. 111-121.

Zúñiga, T.R. y R. Vázquez. 1998. Respuesta radicular de dos variedades de nopal a tres dosis de nitrógeno bajo condiciones de hidroponía. Seminarios primavera. FAUANL, Marín, N. L. México. pp. 96-102.

Zúñiga, T. R., Orona, C. I., Vázquez, C., Murillo-Amador, B., Salazar E., López, J. D., García, J. L. y Rueda, E. 2009. Desarrollo radical, rendimiento y concentración mineral

en nopal *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. en diferentes tratamientos de fertilización. México. J. PACD 11: 53–68.