



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA

**EFFECTIVIDAD DE BIOSÓLIDOS PARA LA FITOESTABILIZACIÓN
DE UN TRANQUE DE RELAVES MINERO, EN LA COMUNA DE
NOGALES**

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

MARÍA JOSÉ LOBOS CHAMORRO

Profesores Guía: Dra. Rosanna Ginocchio. Bióloga.
Dr. Juan Pablo Fuentes. Ingeniero Forestal

Santiago, Chile

2008

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES
DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA

**EFFECTIVIDAD DE BIOSÓLIDOS PARA LA FITOESTABILIZACIÓN
DE UN TRANQUE DE RELAVES MINERO EN LA COMUNA DE
NOGALES**

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Forestal

MARÍA JOSÉ LOBOS CHAMORRO

Calificaciones:	Nota	Firma
Prof. Guía Sr. Juan Pablo Fuentes	6.9
Prof. Guía Sra. Rosanna Ginocchio	7.0
Prof. Consejero Srta. Karen Peña	6.5
Prof. Consejero Sr. Gabriel Mansilla	6.7

Dedico esta memoria a todos lo que colaboraron con esta melodía, a los presentes y sobre todo a los ausentes. En especial a mis hermanos que han sido fuente de mi inspiración.

Monse, ejemplo de vida y de amor.

Feñita, la mariposa de mi corazón.

Tomy, modelo de superación.

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a todos aquellos que de alguna manera hicieron posible este trabajo.

En primer lugar a mi familia, que me acompañó a lo largo de este camino educativo, siendo mi fuente de energía y fortaleza.

A mi profesora Rosanna Ginocchio, por la tremenda oportunidad de trabajar a su lado, por el tiempo, la entrega y por su infinita generosidad.

A mi profesor Juan Pablo Fuentes, por su paciencia, preocupación, confianza y sobre todo por su valioso y generoso conocimiento.

A Karen Peña y Gabriel Mancilla, por sus acertados comentarios y su buena voluntad.

Agradezco enormemente la ayuda brindada por Claudia Santibáñez y Luz María de la Fuente durante la realización de los análisis de laboratorio de esta investigación.

A Paola Arata, por su apoyo y colaboración, y a través de ella, agradezco el apoyo económico entregado por Aguas Andinas, en el marco del convenio AGUAS ANDINAS – CIMM 2007. Adicionalmente, agradezco el apoyo económico del proyecto Innova-Chile de CORFO 04CR9IXD-01, dirigido por el centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM).

A mis amigos, que estuvieron a mi lado, me apoyaron y confiaron en mí. En especial a Carlo, Hector, Karen, Maite y Pancha.

Finalmente agradezco a mis sobrinos Florencia y José Tomás, que llegaron a iluminar este trabajo, llenando mis días de alegrías.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	12
ABSTRACT	15
INTRODUCCIÓN	18
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 Minería	21
2.1.1 Minería en Chile	21
2.1.2 Actividad minera y medio ambiente	21
2.2 Tranques de relaves mineros	22
2.2.1 Antecedentes generales	22
2.2.2 Composición de los relaves	23
2.2.3 Daños ambientales	24
2.2.4 Estabilización de los tranques de relaves mineros: Fitoestabilización	24
2.3 Mejoradores de sustrato	25
2.3.1 Antecedentes generales	25
2.3.2 Características de los biosólidos	26
2.3.3 Potencial de los biosólidos como mejoradores de sustrato	26
2.3.4 Experiencia en otros países	27
2.4 Parámetros para evaluar las características químicas y microbiológicas del sustrato	27
2.4.1 Actividad microbiológica	27
2.4.2 Biomasa microbiana	28

2.4.3	Biomasa de raíces	30
2.4.4	Agua intersticial o agua de poro	30
2.4.4.1	Carbono orgánico disuelto (COD)	31
2.4.4.2	Acidez del suelo o sustrato (pH) y salinidad	31
3	MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1	Material	33
3.1.1	Sitio de estudio	33
3.1.2	Ensayos analizados	33
3.1.2.1	Caracterización del sitio: Zona forestada y abierta (sin cubierta vegetal)	34
3.2	Método	36
3.2.1.	Extracción de muestras para análisis físico, químico y microbiológico	36
3.2.2.	Extracción de muestras para determinar la distribución y biomasa de raíces	37
3.2.3	Análisis de laboratorio	37
3.2.3.1	Retención de agua a “capacidad de campo”	37
3.2.3.2	Actividad y biomasa microbiana	38
3.2.3.3	Determinación de la distribución espacial y biomasa de las raíces	40
3.2.3.4	Características químicas del agua de poro	41
3.2.4	Análisis estadístico	42
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
4.1	ZONA FORESTADA	44
4.1.1	Actividad microbiana	44
4.1.1.1	Emisión total de CO ₂	44

4.1.1.2 Evolución del carbono orgánico desprendido como CO ₂	45
4.1.1.3 Tasa de mineralización del carbono orgánico	46
4.1.2 Biomasa microbiana	47
4.1.2.1 Carbono de la biomasa microbiana (BM _C)	47
4.1.3 Biomasa y distribución de las raíces	49
4.1.3.1 Biomasa de las raíces (peso seco)	49
4.1.3.2 Distribución de las raíces	50
4.1.4 Características químicas del agua de poro	51
4.1.4.1 pH	51
4.1.4.2 Conductividad eléctrica	52
4.1.4.3 Carbono orgánico disuelto (COD)	53
4.1.2.4 Cu y Zn total disuelto	54
4.2 ZONA ABIERTA	57
4.2.1 Actividad microbiana	57
4.2.1.1 Emisiones totales de CO ₂	57
5.2.1.2 Evolución del carbono orgánico desprendido Como CO ₂	58
4.2.1.3 Tasa de mineralización del carbono orgánico	60
4.2.2 Biomasa microbiana	61
4.2.2.1 Carbono de la biomasa microbiana (BM _C)	61
4.2.3 Biomasa y distribución de las raíces	62
4.2.3.1 Biomasa de las raíces (peso seco)	62
4.2.3.2 Distribución de las raíces	63
4.2.4 Características químicas del agua de poro	64

4.2.4.1 pH	64
4.2.4.1 Conductividad eléctrica	65
4.2.4.3 Carbono orgánico disuelto (COD)	66
4.2.4.4. Cu y Zn	68
5. CONCLUSIONES	71
6. BIBLIOGRAFÍA	74
7. APÉNDICE	86
7.1 Abreviaciones y símbolos	86

ÍNDICE CUADROS

Cuadro 1.-Escala de acidez del suelo y de salinidad.	32
Cuadro 2.- Emisión total de C-CO ₂ desprendido para los tratamientos analizados en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de 28 días de incubación.	45
Cuadro 3.- Carbono potencialmente mineralizable (Co), fracción de C mineralizado por día o tasa de mineralización (k) y tiempo que se requiere para mineralizar el C (1/k) para los tratamientos en sector forestado.	47
Cuadro 4.- Carbono en la biomasa microbiana (BM _C) de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de 10 días de incubación.	48
Cuadro 5.- Metales totales disueltos en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región.	55
Cuadro 6.- Emisiones totales de C-CO ₂ desprendido para los tratamientos ubicados en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de 28 días de incubación.	58
Cuadro 7.- Carbono potencialmente mineralizable (Co), fracción de C mineralizado por día o tasa de mineralización (k) y tiempo que se requiere para mineralizar el C (1/k) para los tratamientos en sector abierto.	60
Cuadro 8.- Carbono en biomasa microbiana (BM _C) de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de 10 días de incubación.	61
Cuadro 9.- Metales totales disueltos en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región.	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Zonas de establecimiento del ensayo piloto de fitoestabilización en el tranque de relaves El Cobre de la Mina El Soldado de Anglo American Chile, comuna de Nogales, V Región.	34
Figura 2: Incubación de las muestras durante la determinación de la actividad microbiana y etapa de fumigación con cloroformo de las muestras durante la determinación de la biomasa microbiana.	40
Figura 3: Lavado de raíces desde el sustrato experimental con agua desmineralizada.	40
Figura 4: Obtención de agua de poro desde los sustratos experimentales.	41
Figura 5.- Emisión diaria acumulada de C-CO ₂ para los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, durante 28 días de incubación.	46
Figura 6.- Variación temporal del C- Biomasa microbiana del sustrato para los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de un año (2006) y de dos años (2007) desde la incorporación de los mejoradores al relave, expresados en µgC/g suelo seco.	49
Figura 7.- Biomasa de raíces (peso seco) presente en los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región.	50
Figura 8.- Distribución espacial de la biomasa de raíces (peso seco), según profundidad, para los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región.	51
Figura 9.- pH del agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región.	52
Figura 10.- Conductividad Eléctrica (CE) del agua de poro para los sustratos de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región.	53

- Figura 11.- Variación temporal del Carbono orgánico disuelto (COD) contenido en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de un año. 54
- Figura 12.- Variación temporal del Cu y Zn total disuelto en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de un año (2006) y de dos años (2007) desde la aplicación de los mejoradores. 56
- Figura 13.- Emisión diaria acumulada de C-CO₂ para los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, durante 28 días de incubación. 59
- Figura 14.- Variación temporal del C- Biomasa microbiana del sustrato para los tratamientos experimentales establecido en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de un año expresados en µg C/ g suelo seco. 62
- Figura 15.- Biomasa de raíces (peso seco) presente en los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. 63
- Figura 16.- Distribución espacial de la biomasa de raíces (peso seco), según profundidad, para los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. 64
- Figura 17.- pH del agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. 65
- Figura 18.- Conductividad eléctrica (CE) del agua de poro para los sustratos de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. 66
- Figura 19. Variación temporal del de Carbono orgánico disuelto (COD) contenido en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región., al cabo de un año expresado en mg/l. 67
- Figura 20.- Variación temporal del Cu y Zn total disuelto en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región., al cabo de un año expresado en mg/l. 70

RESUMEN

Chile presenta dos grandes problemáticas necesarias de resolver para asegurar la sustentabilidad ambiental para las futuras generaciones; una de ellas es la falta de terreno para la depositación de los desechos sólidos generados por las plantas de tratamiento de aguas servidas domiciliarias (biosólidos) y, la segunda, es la necesidad de contar con tecnologías adecuadas para la estabilización de desechos mineros masivos, como los tranques de relaves, los que pueden imponer riesgos en el medio ambiente. Aunque ambas temáticas puedan parecer inconexas, la validación de la tecnología de fitoestabilización permitiría el reciclaje de los biosólidos como un acondicionador de los relaves mineros, de forma de permitir el establecimiento de una cubierta vegetal autosustentable para la estabilización efectiva de este tipo de desecho minero masivo en el largo plazo.

Con el fin de evaluar la efectividad de los biosólidos para mejorar las características químicas, microbiológicas y de enraizamiento vegetal en un tranque de relaves de cobre, se analizó la evolución de estos parámetros en los nueve tratamientos experimentales establecidos en un ensayo piloto de fitoestabilización realizado en el marco del proyecto Innova-Chile CORFO 04CR9IXD-01 a cargo del Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, CIMM. Tres tratamientos se encuentran en una zona previamente forestada del tranque de relaves El Cobre de la Mina El Soldado, Anglo American Chile, comuna de Nogales, V Región. El primer tratamiento presenta incorporación de biosólidos al relave (F-TBm), el segundo consiste en la aplicación de una capa superficial de suelo de escarpe (F-TSE) y el tercero corresponde al tratamiento control (F-TC), sin manejo. De manera separada se analizan los seis tratamientos restantes, establecidos en una zona abierta del mismo tranque; de estos seis, dos tratamientos contienen incorporación de biosólidos al relave en distintas dosis (A-TBm2 y A-TBm4), un tratamiento presenta aplicación superficial de biosólidos al relave (A-TBs), el siguiente tratamiento contiene incorporación de una mezcla de biosólidos más astillas de madera de eucalipto (A-TBCm), el quinto tratamiento presenta incorporación de una mezcla de biosólidos más astillas de madera de

eucalipto más una capa superficial de suelo de escarpe (A-TSE) y, por último, el tratamiento control sin manejo (A-TC). Todos los tratamientos fueron sembrados con una mezcla de especies herbáceas y pastos silvestres colectados localmente. Los parámetros evaluados en muestras de sustrato colectadas en terreno el año 2007 fueron la actividad respiratoria y el carbono de la biomasa microbiana, la distribución y la biomasa (peso seco) de las raíces desarrolladas *in situ*, y finalmente algunas características químicas del agua intersticial (agua de poro) de los sustratos.

Los resultados indicaron que la aplicación de biosólidos y de suelo de escarpe permiten una recuperación de la calidad microbiológica de los relaves, tanto en las zonas forestada como abierta, mostrando un incremento significativo de los parámetros que determinan la actividad de los microorganismos presentes en el sustrato. Tanto el carbono de la biomasa microbiana como la respiración basal de los tratamientos con aplicación de acondicionadores han sido superiores al control. La actividad microbiana se ha mantenido activa durante el segundo año de evaluación, siendo muy destacable este comportamiento desde el punto de vista de la rehabilitación ecológica de estos sustratos. Sin embargo, es importante considerar que las respuestas microbianas fueron evaluadas sólo en el corto plazo. En relación a la actividad y biomasa microbianas, las mejores respuestas obtenidas correspondieron a las dosis más altas de aplicación de biosólidos en mezcla (400 Mg ha^{-1}) y a la aplicación superficial de biosólidos (200 Mg ha^{-1}). Sin embargo, para determinar la dosificación y la forma de aplicación más adecuadas para la rehabilitación de los relaves mineros a través de programas de fitoestabilización deben considerarse otros parámetros químicos y físicos del sustrato generado, además de los efectos en el establecimiento y el crecimiento de la vegetación de interés.

El crecimiento de las raíces de las plantas, en términos de biomasa seca producida, fue adecuado para todos los acondicionadores y dosis usadas en el ensayo piloto de terreno. Sin embargo, la biomasa radical se concentra en las capas superficiales del sustrato (0-20 cm de profundidad), donde las características microbiológicas, nutricionales y químicas son más adecuadas. Específicamente, la zona superficial mejorada es la que concentra la mayor biomasa vegetal. De esta forma, podría ser adecuado aumentar la profundidad de

incorporación de los biosólidos o la profundidad de la capa superficial de suelo de escarpe aplicada, de forma de generar sistemas radicales más profundos, que aseguren el mejor anclaje de la vegetación herbácea.

La aplicación de biosólidos a los relaves mineros afecta, en una forma dosis-dependiente, algunos parámetros de la química del agua intersticial o agua de poro. Específicamente, la aplicación en altas dosis de biosólidos (400 Mg ha^{-1}) aumenta la conductividad eléctrica (salinidad) y disminuye el pH del agua intersticial, parámetros que deben ser observados para no afectar negativamente el establecimiento y crecimiento de la vegetación que se desea establecer. Adicionalmente, la aplicación de biosólidos aumenta el contenido de carbono orgánico disuelto (COD) en el agua de poro y el contenido de cobre total disuelto, en una forma dosis-dependiente. La solubilización de cobre en el sustrato debe ser observada, de forma de evitar que se superen ciertos valores críticos que puedan imponer problemas de toxicidad por cobre para las plantas o aumentos en la acumulación de este metal en los tejidos vegetales que puedan ser de consumo por parte de animales herbívoros. El suelo de escarpe, utilizado en este estudio, no presenta estos efectos, por lo que su dosificación no constituye un problema en cuanto a la química del sustrato.

Al considerar en forma integrada las respuestas microbiológicas, del crecimiento de raíces y de variaciones en la química del agua de poro, para la aplicación de biosólidos al relave en estudio, se sugiere usar dosis de biosólidos no mayores a 200 Mg ha^{-1} y mezclados con astillas de madera, para asegurar una fertilidad adecuada del sustrato, una actividad microbiana adecuada y de largo plazo y evitar la superación de concentraciones críticas de cobre en el agua intersticial del sustrato manejado, las que pudieran imponer problemas de fitotoxicidad y/o de acumulación inadecuada de cobre en los tejidos vegetales de consumo animal.

Palabras claves: Biosólidos, tranques de relaves, actividad y biomasa microbiana, fitoestabilización.

ABSTRACT

Chile has two major problems to resolve to ensure environmental sustainability for future generations; one of them is the lack of land for the deposition of solid wastes (biosolids) generated by municipal sewage sludge treatment plants and the second is the need for appropriate technologies for the stabilization of massive mine wastes, such as tailings storage facilities, both of which can impose risks on the environment. Although both issues may seem unrelated, validating the technology of phytostabilization would allow the recycling of biosolids as an amendment of mine tailings, so as to allow the establishment of self-sustaining plant covers for the cost-effective stabilization of mine tailings in the long term.

In order to evaluate the effectiveness of biosolids to improve the chemistry, microbiology and plant rooting properties in a copper's tailings storage facility, the evolution of these parameters were analyzed in nine experimental treatments established in a pilot phytostabilization study case conducted under the project Innova-Chile CORFO 04CR9IXD-01 by the Chilean Research Center for Mining and Metallurgy, CIMM (Centro de Investigación Minera y Metalúrgica). Three treatments were established in a previously forested area of the tailings dam "El Cobre", belonging to "El Soldado" copper mine, property of Anglo American Chile, county of Nogales, Vth Region. The first treatment was the incorporation of biosolids to tailings (F-TBM), the second involved the application of a superficial layer of topsoil (F-TSE) and finally a control treatment (R-CT), unmanaged. The six remaining treatments were established in an open area of the tailings dam; of these six, two treatments considered incorporation of biosolids to tailings at different doses (A-TBm2 and A-TBm4), one involved application of superficial layer of biosolids (A-TBS), one incorporated a mixture of biosolids and eucalyptus wood chips (A-TBCm), one incorporated a mixture of biosolids and eucalyptus wood chips plus a surface layer of topsoil (A-TSE) and, finally, a treatment without management as control. All treatments were sown with a mixture of wild grass and herb species locally collected. The parameters evaluated in substrate samples collected in the field in the year 2007 were respiratory

activity and carbon microbial biomass, distribution and biomass (dry weight) of roots developed *in situ*, and some chemical characteristics of the substrate's pore water.

Results indicated that application of biosolids and topsoil allow the recovery of the microbiological quality of the tailings, both in forested and open areas, showing a significant increase in the parameters that determine the activity of microorganisms present in the substrate. Both the carbon in the microbial biomass and the baseline respiration rate were significantly higher in amended treatments than in control areas. Microbial activity has remained active during the second year of evaluation, a very important result from the viewpoint of the ecological rehabilitation of these substrates. However, it is important to consider that microbial responses were evaluated only in the short term. In relation to the activity and microbial biomass, the best responses were obtained at higher doses of application of mixed biosolids (400 Mg ha⁻¹) and surface application of biosolids (200 Mg ha⁻¹). However, to determine the dosage and how to implement the best manner to achieve the rehabilitation of mine tailings across phytostabilization programs other chemical and physical parameters of the substrate generated, in addition to the effects on the establishment and growth of the interest vegetation, should be considered.

Application of biosolids to the tailings affects, in a dose-dependent way, some parameters of the pore water chemistry. Specifically, the application of biosolids in high doses (400 Mg ha⁻¹) increases the electrical conductivity (salinity) and lowers the pH of the pore water, parameters that must be observed so as not to adversely affect the establishment and growth of vegetation that is desired to set. Additionally, the application of biosolids increases the content of dissolved organic carbon (COD) in the pore water and content of total dissolved copper, in a dose-dependent way. The solubilisation of copper in the substrate must be observed, to avoid exceeding certain critical values that may pose some risks of copper toxicity for plants and/or increases copper accumulation in plant tissues that may be eaten by herbivores. Topsoil does not present such potential secondary effects.

The growth of plant roots, in terms of dry biomass, was suitable for all amendments and doses used in the pilot study. However, the root biomass is mainly located on the upper layers of the substrate (0-20 cm), where the characteristics microbiological, chemical and nutrition are more appropriate. Specifically, the improved surface area is where the highest plant biomass is concentrated. Thus, it might be appropriate to increase the depth of incorporation of biosolids or the depth of the surface layer of topsoil applied, so as to ensure deeper radical systems which ensure better anchoring of the herbaceous vegetation.

When considering an integrated viewpoint of the recreated system for the application of biosolids in the tailings, including microbial, plant root growth and variations in the pore water chemistry, it is suggested the use of biosolids in a dose not greater than 200 Mg ha⁻¹ and mixed with wood chips, to ensure an adequate fertility of the substrate, an adequate long-term microbial activity and to avoid overcoming critical concentrations of copper in the pore water of the managed substrate, that may pose problems of phytotoxicity and /or inadequate accumulation copper in plant tissues that may be consumed by herbivores.

Key Words: Biosolids, tailings storage facilities, activity and microbial biomass, phytostabilization

INTRODUCCIÓN

La minería es una de las actividades económicas del país que más ha crecido durante la última década y es también una de las que ha ocasionado más contaminación histórica del medio ambiente, ya sea en forma directa o indirecta (Lagos, 2004). Con el establecimiento de la Ley General de Bases del Medio Ambiente, se comenzó a definir en Chile el marco regulatorio para la actividad industrial, incluida la minería, de forma de asegurar el cuidado y la conservación del medio ambiente.

A pesar que desde aproximadamente cuarenta años existe en el país un reglamento de construcción y operación de tranques de relaves generados por la actividad minera (Decreto Supremo, D.S., N°86/1970 del Ministerio de Minería), es sólo muy reciente la legislación específica que norma las acciones a seguir en el proceso de cierre de los tranques mineros (D.S. N°132/2002 del Ministerio de Minería, efectivo a contar de Febrero de 2004 y D.S. N°248/2006 del Ministerio de Minería). Este hecho tiene especial importancia, puesto que cuando los tranques de relaves dejan de ser operativos éstos se deshidratan por las condiciones climáticas Mediterráneas semi-áridas y áridas de la zona centro-norte del país. De esta forma, los relaves quedan expuestos a diversos procesos tales como la erosión eólica, la erosión hídrica y los sismos de alta intensidad, los que pueden determinar la dispersión de este material al entorno, con la consecuente contaminación de las aguas y de los suelos, y la posible ocurrencia de efectos negativos en el medio ambiente. Ante este tipo de problemas han surgido una serie de técnicas que tienen por finalidad el minimizar la dispersión de los relaves al entorno; entre estas técnicas está la fitoestabilización.

La fitoestabilización es una técnica de estabilización de suelos contaminados con metales y de desechos mineros masivos. En esta técnica se utilizan principalmente plantas metalófitas o tolerantes a metales y mejoradores de sustrato adecuados, los que permiten dejar los elementos metálicos en formas inocuas para los organismos. La fitoestabilización utiliza mejoradores de sustrato que permiten inmovilizar o reducir la biodisponibilidad de los metales presentes en los relaves. Estos mejoradores de sustrato permiten, además, la

rehabilitación de la microbiota, la cual facilita el reciclaje de la materia orgánica, y mejora la condición física y de fertilidad del sustrato para el establecimiento de la vegetación.

Dentro de las enmiendas orgánicas que se podrían utilizar como mejoradores de los relaves mineros se encuentran los biosólidos o lodos provenientes de las plantas de tratamiento de aguas servidas domiciliarias. La aplicación de biosólidos a los relaves mineros permitiría disminuir la biodisponibilidad de los metales, particularmente de cobre, ya que aporta materia orgánica al suelo de manera significativa. Esta materia orgánica posee una alta capacidad de adsorber cationes metálicos y, a la vez, contribuye al aporte de nutrientes para las plantas. Por otra parte, el determinar usos potenciales que permitan el reciclaje de los biosólidos permitiría solucionar problemas sociales y ambientales relacionados con la gestión de estos desechos orgánicos caracterizados por el gran volumen de producción. La presente investigación tiene por objetivo, evaluar la efectividad de los biosólidos para mejorar las características químicas, microbiológicas y de enraizamiento vegetal en un tranque de relaves de cobre de la Región de Valparaíso sometido a un programa de rehabilitación por fitoestabilización, entregando además información complementaria sobre el desarrollo de la vegetación utilizada en el programa de fitoestabilización. A su vez, se plantearon tres objetivos específicos para la consecución del objetivo general, estos objetivos y las metodologías utilizadas son expuestos a continuación:

- Determinar la actividad y la biomasa microbiana en relaves acondicionados y no acondicionados con biosólidos, en áreas fitoestabilizadas del tranque de relaves. Estos resultados se obtienen a partir de la determinación de la evolución de CO₂ y el método de fumigación-incubación con cloroformo, respectivamente.
- Determinar la distribución y la biomasa en peso seco de las raíces desarrolladas in situ en relaves fitoestabilizados, acondicionados y no acondicionados con biosólidos. Para conseguir estos resultados se toma muestras de sustrato a distintas profundidades, las que luego son sometidas al método de lavado de raíces con agua desmineralizada, de forma de aislar las raíces del sustrato.

- Evaluar el efecto de la aplicación de biosólidos en las características químicas del agua intersticial (agua de poro) de los sustratos, en áreas fitoestabilizadas del tranque de relaves, acondicionados y no acondicionados con biosólidos. La metodología de extracción de agua intersticial se basa en el uso de muestreadores de agua de poro (Rhizon® Soil Pore Water Samplers), insertados en muestras de los sustratos de interés. El agua intersticial colectada es caracterizada químicamente en cuanto a pH y conductividad eléctrica, medidos mediante conductivimetría, carbono orgánico disuelto, medido mediante el método U.S. EPA 415.1, y finalmente en cuanto a metales totales disueltos en el agua de poro (Cu y Zn), obtenidos a través de espectrometría de absorción atómica.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Minería

2.1.1 Minería en Chile

La minería es una de las actividades más importantes del país, por lo que Chile se ha definido como un país minero (Vega, 2001). Desde antes de la llegada de los españoles ya se realizaban explotaciones de diversos minerales en el país, entre los que se destacan el oro, la plata y el cobre. En el siglo XX y particularmente en la década de los cincuenta, la producción de cobre aumentó hasta alcanzar la mayor producción a nivel mundial con un 30% del total (Lagos, 2004). Durante la última década, Chile ha sido el primer productor de cobre, el décimo productor de oro, el quinto en plata y el tercero en molibdeno. A futuro, la minería se mantendrá como una actividad importante para el país debido a la existencia de amplias reservas, tanto de minerales metálicos como no metálicos.

2.1.2 Actividad minera y medio ambiente

La actividad minera genera impactos ambientales, tanto en la zona de explotación del yacimiento, en donde se genera una importante modificación del paisaje, como en las áreas de procesamiento o beneficio de los minerales tales como las fundiciones (Rodríguez *et al.*, 2001). A pesar de la escasa información científica que se maneja en nuestro país acerca de los impactos ambientales que provocan los procesos mineros, se sabe que la emisión de residuos sólidos, líquidos y gaseosos a partir de los procesos mineros y metalúrgicos pueden causar contaminación tanto a nivel del suelo, como del aire y del agua y provocar la destrucción tanto paisajística como de la vida silvestre (CONAMA, 1994; González, 1994; Vega, 2001).

Los suelos y la vegetación son algunos de los componentes ambientales que se ven directamente afectados por la actividad minera (Bradshaw, 1988), en especial en los alrededores de los tranques de relaves. La dispersión de material particulado rico en metales desde los tranques a las zonas aledañas puede imponer problemas para la vegetación presente, ya que contenidos excesivos de metales en los tejidos vegetales pueden provocar efectos tóxicos en las plantas (Cheng, 2003). Sin embargo, se ha encontrado que las diferentes especies de plantas y las diferentes poblaciones dentro de una misma especie, presentan capacidades distintas para tolerar los metales y pueden acumular cantidades variables de estos elementos en sus tejidos vegetales (Young *et al.*, 1995).

2.2 Tranques de relaves mineros

2.2.1 Antecedentes generales

Debido a la extracción y al beneficio de minerales sulfurados de cobre, se generan grandes volúmenes de desechos sólidos. Entre ellos, los más voluminosos son los relaves, los que corresponden aproximadamente a un 80% del total de desechos generados. Estos desechos se depositan en embalses artificiales, ubicados generalmente en terrenos cercanos a las plantas mineras (CONAMA, 1999).

Desde 1970, los relaves mineros deben ser embancados en tranques artificiales, según se estipula en el D.S. N°86 del Ministerio de Minería, el que establece un reglamento de construcción y operación de tranques de relaves (SERNAGEOMIN, 1989). La mayor parte de los relaves mineros del país no han sido reprocesados ni reutilizados en el proceso productivo, por lo que su almacenamiento es la única opción viable para la disposición final. Como estrategia operativa, las compañías mineras, han ubicado a los tranques lo más cerca posible de la planta de procesamiento de minerales (Andía y Lagos, 2001).

Hasta hace algunos años, las empresas mineras ponían gran énfasis en la construcción de los tranques de relave, pero no así en su cierre. Sin embargo, la reciente incorporación de una legislación relacionada con el cierre de los tranques de relaves mineros ha cambiado esta situación. En el año 2002 el Ministerio de Minería modificó el Reglamento de Seguridad Minera a través del D.S. N°132, el que se hizo efectivo en Febrero del 2004. El reglamento asociado fue materializado a través del D.S. N°248 del Ministerio de Minería, el cual fue aprobado el año 2006. Estas modificaciones mencionan expresamente que los depósitos de relaves mineros no pueden ser abandonados sin el cubrimiento de sus cubetas y taludes. Aunque no se indica el método específico de cubrimiento, se sugieren alternativas como el uso de geomembranas o de cubiertas vegetales (D.S. N°132/2002 del Ministerio de Minería).

2.2.2 Composición de los relaves

Los relaves, según lo define la legislación nacional vigente (e.g. Decreto Supremo, D.S. N°248 de 2007 del Ministerio de Minería), corresponden a una suspensión de sólidos en líquidos, formando una pulpa, que se genera y desecha en las plantas de concentración húmeda de especies minerales que han experimentado una o varias etapas en circuito de molienda fina. El vocablo se aplica también a la fracción sólida de la pulpa. En otras palabras, corresponden a mineral finamente molido, en solución acuosa, desde el cual no ha sido posible extraer más metal a través del proceso de concentración por flotación (Ginocchio, 2007). Usualmente, contienen entre un 10 y 20% de los minerales de interés económico que no han podido ser recuperados.

Los relaves que salen de la planta de concentración son embancados en tranques artificiales (depósitos de relaves). Aproximadamente un 35% de los relaves corresponden al material particulado, el que se separa del agua por gravedad, decantando al fondo del tranque. De esta forma, el agua se acumula en la superficie, formando una laguna. Esta agua es denominada agua clara. La fase acuosa puede evaporarse, sobrepasar hacia las quebradas y

luego al mar o bien ser recuperada y reciclada dentro del proceso minero, para los procesos de molienda (Vick *et al.*, 1995).

2.2.3 Daños ambientales

En el caso de los tranques de relaves mineros, entre los efectos negativos se encuentra la contaminación del aire debido a dispersión de los relaves por el viento. Los tranques de relaves pueden alterar, además, la composición del suelo adyacente, la flora y fauna, y producir cambios a nivel de microclima, que se traducen en una variación del paisaje (Ayala y Vadillo, 1999). La mayoría de los impactos ambientales se genera por las grandes dimensiones de los depósitos de relaves, la vulnerabilidad de los relaves a la erosión eólica e hídrica, la alteración que producen en los cauces de aguas naturales y a la composición física y química de los residuos, que entre otros, pueden llevar a la acidificación del medio (Peppas *et al.*, 2000). Todos estos problemas se agudizan en la zona norte-central de Chile producto de la escasez del agua, las condiciones rudimentarias de la construcción histórica de los tranques abandonados existentes y por los efectos erosivos del clima seco, mezclado con los fuertes vientos y precipitaciones intensas de corta duración en los años bajo la influencia del fenómeno El Niño (CONAMA, 1999).

2.2.4 Estabilización de los tranques de relaves mineros: Fitoestabilización

Dentro de las tecnologías existentes en el mundo que permiten el cubrimiento efectivo de los tranques de relaves mineros está la fitoestabilización (Ginocchio, 2004 y 2005). Esta es una tecnología actualmente probada y sustentada por variados estudios realizados en países como Estados Unidos, Australia, Sudáfrica y Canadá (e.g. Haering *et al.*, 2000; Ribet *et al.*, 1995; Van der Lelie *et al.*, 2001). En esta técnica se utilizan principalmente plantas nativas metalófitas o tolerantes a metales, debido a que los tranques de relaves pueden tener cargas metálicas, como por ejemplo de cobre, que pueden ser tóxicas para las plantas u otros seres vivos. La fitoestabilización utiliza, además, mejoradores de sustrato que

minimizan los factores limitantes de tipo físico, químico y biológico inherentes a los relaves mineros. De esta forma, se contribuye a asegurar el establecimiento de una cubierta vegetal autosustentable en el largo plazo (Ginocchio, 2004a y 2005; Santibáñez *et al.*, 2006) y a la rehabilitación de la funcionalidad de la microbiota del sustrato (Karlen *et al.*, 1997).

2.3 Mejoradores de sustrato

2.3.1 Antecedentes generales

Es sabido que los relaves mineros presentan una actividad microbiana muy baja (García *et al.*, 1993; De la Iglesia *et al.*, 2006), además de poseer contenidos muy bajos de materia orgánica y de nutrientes (Ginocchio *et al.*, 2006); es por eso, que para que las especies vegetales establecidas en un tranque de relaves puedan ser autosustentables en el tiempo, es necesario restituir no sólo la fertilidad del sustrato sino que también mejorar algunas características físicas y químicas de los relaves, además de la actividad microbiana encargada de los procesos de mineralización y ciclaje de los nutrientes (Ginocchio y León-Lobos, 2008). Específicamente, los mejoradores de sustrato deben inmovilizar o reducir la biodisponibilidad de los metales presentes en el sustrato, rehabilitar la microbiota encargada del reciclaje de la materia orgánica del sustrato, y mejorar la condición física y de fertilidad, asegurando el establecimiento y autosustentabilidad de la vegetación (Alcañiz *et al.*, 1998; García, 2001).

Santibáñez (2006) y García *et al* (1993), plantean que el uso de enmiendas orgánicas podría beneficiar la recuperación de la actividad de los microorganismos. Dentro de los residuos orgánicos que podrían utilizarse como mejoradores de relaves mineros se encuentran los guanos, los biosólidos provenientes de las plantas de tratamiento de aguas servidas domiciliarias y los residuos leñosos (Ginocchio 2007; Ginocchio y León-Lobos, 2008).

2.3.2 Características de los biosólidos

Los lodos tratados biológicamente, en adelante “biosólidos”, corresponden a un material compuesto principalmente por materia orgánica, macro y micro nutrientes, y algunos elementos traza. Los biosólidos resultan de la separación y tratamiento del componente sólido en el proceso de depuración de las aguas servidas domiciliarias. La normativa internacional, en su concepción general, los define como un material que ha sido sometido a procesos de tratamiento y que por su contenido de materia orgánica y nutrientes puede ser susceptible de aprovechamiento (Aguas Andinas, 2006).

2.3.3 Potencial de los biosólidos como mejoradores de sustrato

El biosólido, como material rico en nutrientes y materia orgánica es una alternativa al compost y a la tierra de hoja, debido a su alto valor como mejorador de suelos. El uso de biosólidos en mezcla con el suelo aumenta la estabilidad de los agregados y la capacidad de retención de agua, además de aumentar la capacidad de intercambio catiónico (CIC), lo que es muy positivo en términos de mejoras en la fertilidad (SAG, 2004). Existen antecedentes de que los biosólidos tienen valor fertilizante (Aguas Andinas, 2001). Adicionalmente, la materia orgánica tiene una alta capacidad de adsorber cationes metálicas, particularmente los cationes de cobre, por lo que permite reducir la biodisponibilidad del cobre en el sustrato y, por ende, su toxicidad para los seres vivos (Santibáñez, 2006). Los beneficios se generan tanto por el aporte de materia orgánica, que favorece la estructuración, la química y la actividad microbológica de los suelos, como por el aporte de nutrientes (principalmente nitrógeno y fósforo) (SAG, 2004).

La aplicación de biosólidos sobre desechos mineros, como es el caso de los tranques de relaves, permitiría el desarrollo de una cubierta vegetal acorde al entorno y que no requiera de futuros aportes de fertilizantes o riego, lo que disminuye fuertemente la erosión y la fragmentación del ecosistema (Aguas Andinas, 2006). También fomenta el desarrollo de

especies vegetales y reduce la biodisponibilidad de los metales existentes (Verdugo *et al.*, 2005).

2.3.4 Experiencia en otros países

Numerosas experiencias internacionales se han orientado fundamentalmente a la reutilización benéfica de los biosólidos en suelos e indican que la correcta aplicación de ellos genera beneficios en la productividad (Verdugo *et al.*, 2005). Algunos países ya evalúan las alternativas de uso y disposición final de los biosólidos en función de las cantidades de biosólidos generados y proyectados, desde el punto de vista técnico-económico y ambiental (Hall, 2003). En Estados Unidos, durante el año 1989 se incorporó el 42% de los biosólidos generados a los suelos agrícolas. En Francia, más del 60% de los biosólidos fueron incorporados al 2% de los suelos agrícolas durante 1999, siendo utilizados fundamentalmente como fertilizantes (Epstein, 2003). En México también se ha experimentado en el uso benéfico de los biosólidos obteniendo buenos resultados (Fresquez y Dennis, 1990).

2.4 Parámetros para evaluar las características químicas y microbiológicas del sustrato

2.4.1 Actividad microbiológica

Los relaves mineros presentan una actividad microbiana muy baja (García *et al.*, 1993; De la Iglesia *et al.*, 2006), además de poseer contenidos muy bajos de materia orgánica (Ginocchio *et al.*, 2006; Santibáñez, 2006). Sin embargo, para poder establecer una comunidad vegetal autosustentable en el largo plazo sobre estos residuos mineros, es necesario restituir la actividad microbiana encargada de los procesos de mineralización y ciclaje de nutrientes (Ginocchio y León-Lobos, 2008). La microbiota ejerce una gran influencia en numerosas reacciones de oxidación, hidrólisis y degradación de la materia

orgánica, estableciendo con ello las condiciones idóneas para el desarrollo de una cubierta vegetal sustentable (Santibáñez, 2006).

La actividad biológica del suelo se sustenta en dos grandes elementos, las sustancias orgánicas en distintas etapas de descomposición y la microbiota que ocupa el sustrato orgánico como fuente de energía y de carbono (Varnero, 1994). Al realizar una comparación entre distintos suelos o sustratos tales como mezclas de relaves con biosólidos, es indispensable que los factores que controlan la actividad microbiana, es decir, la temperatura y humedad, se encuentren a un nivel de igual efecto (Delphin, 1986). Al respecto, Varnero *et al* (1987), señalan que las tasas de respiración del suelo presentan uno de sus óptimos entre los 20° y 30° C. A su vez Delphin (1986), señala que el proceso de mineralización permanece estable cuando la humedad alcanza valores entre 70 y 80% de la capacidad de campo de los suelos.

Dado que la descomposición aeróbica de un sustrato orgánico tiene como productos principales CO₂ y H₂O, la evolución del CO₂ puede utilizarse como un indicador de la actividad respiratoria de las comunidades microbianas presentes en un sustrato, como en los relaves acondicionados con biosólidos (Ambus y Robertson, 1998). Según Dommergues (1968), la evolución del CO₂ establece una relación porcentual entre el carbono orgánico emitido como CO₂ y el carbono orgánico presente al inicio del ensayo, lo que define la tasa de mineralización del carbono orgánico en un tiempo determinado. Este enfoque permite la comparación entre distintos mejoradores de sustrato, ya que se abstrae de los niveles absolutos de carbono orgánico presente en ellos.

2.4.2 Biomasa microbiana

Las propiedades biológicas del suelo son importantes ya que pueden tomarse como un indicador sensible y anticipado para evidenciar los cambios que se producen en el proceso de recuperación de los suelos (García y Hernández, 1997) o de distintos sustratos, como los desechos mineros. Jenkinson (1987), sugiere que la biomasa microbiana (BM) del suelo

puede ser un indicador para estimar el “pool” de nutrientes disponibles para las plantas, así como para interpretar de manera más fiel las modificaciones inducidas por las prácticas de manejo utilizadas. Es así, como a partir de diversos estudios sobre el comportamiento de la BM, ha sido posible inferir que una de las razones por las que se puede entender el beneficio de aumentar la BM en los suelos, es que ésta se encarga no sólo de transformar los materiales orgánicos que llegan al suelo, si no que representa además una reserva lábil de N (Ferrera *et al.*, 2000; Abawi y Thurston, 1994).

Es posible mencionar también que la BM ha sido propuesta como un indicador sensible de los cambios sufridos en la materia orgánica (MO) global, ante diferentes situaciones de manejo, ya que los microorganismos del suelo utilizan los compuestos constituyentes de la MO como fuente de energía, para construir sus propias estructuras (Powlson *et al.*, 1987).

Muchos autores han demostrado que la aplicación de materiales orgánicos al suelo incrementan la actividad y cantidad de biomasa microbiana y presentan una influencia directa sobre la fertilidad de los suelos (Jenkinson y Powlson, 1976; Powlson *et al.*, 1987, Anderson y Domsch, 1989), aunque no se debe olvidar que la composición química, el aporte de nutrientes a los cultivos y su efecto en el suelo, varían según la procedencia, edad, manejo y contenido de humedad de la enmienda orgánica. Los abonos o enmiendas orgánicas pueden prevenir, controlar e influir en la severidad de los patógenos del suelo, además de servir como fertilizantes y mejoradores (Ferrera *et al.*, 2000).

Es importante destacar que el estudio exhaustivo del efecto de distintos abonos o enmiendas orgánicas sobre la biomasa del suelo es de suma importancia para avanzar en el diagnóstico de la fertilización, utilizando la biomasa microbiana como índice para su evaluación (Grissi, 1992).

2.4.3 Biomasa de raíces

A través del estudio de la distribución espacial y la biomasa de las raíces se pueden establecer relaciones entre las necesidades fisiológicas de las plantas y el efecto que ocasionan sobre el suelo, así como la relación existente entre las propiedades del suelo y el desarrollo de las raíces (Giulivo y Pitacco, 1997; Jiménez y Arias, 2004). Es bien conocido que la materia orgánica (MO) favorece el desarrollo de las raíces de forma directa e indirecta (Molina 2000, Vega *et al.*, 2005) y a su vez el contenido de MO es proporcional a la disponibilidad de nutrientes, que permiten un mayor desarrollo de la biomasa de raíces (Jiménez *et al.*, 2004). Es necesario recordar que los biosólidos son un material compuesto principalmente por materia orgánica, macro y micro nutrientes (Aguas Andinas, 2006). Por esta razón, el aporte de MO que realiza al relave minero debiese ser importante en el aumento de la biomasa de raíces resultante. La biomasa de raíces es un parámetro que expresa la cantidad de biomasa, en una unidad de área determinada en la profundidad de muestreo (g m^{-2}), por lo que se puede tomar como parámetro para estimar la fijación de carbono en el ecosistema (Morales 1997).

2.4.4 Agua intersticial o agua de poro

Las aguas intersticiales son indicadores muy sensibles a los cambios diagenéticos incipientes producidos en los sólidos. Los análisis químicos de soluciones intersticiales son generalmente más fáciles de realizar y su interpretación menos ambigua que los análisis químicos en los suelos o sustratos sólidos (López y Díaz, 2001). Por ejemplo, la incorporación al suelo de biosólidos ricos en carbono orgánico incrementa la cantidad de carbono orgánico disuelto (COD) (Baham y Sposito 1983; Zhou y Wong 2001). El COD, podría solubilizar el cobre contenido en los relaves, posibilitando la absorción de estos complejos COD-Cu por las raíces de las plantas. De hecho, Santibáñez (2006), expone que una de las grandes preocupaciones en relación a la aplicación de biosólidos, tanto al suelo como a los desechos mineros (relaves), es la posible acumulación de metales en los tejidos

aéreos de las plantas y posterior traspaso a la cadena alimenticia o bien la aparición de efectos tóxicos sobre las plantas y/o los microorganismos.

2.4.4.1 Carbono orgánico disuelto (COD)

El COD corresponde a compuestos orgánicos de bajo peso molecular, como los ácidos fúlvicos, los cuales se producen durante el proceso de descomposición de la MO (Santibáñez, 2006). En suelos acondicionados con biosólidos la presencia de COD aumenta la biodisponibilidad de los metales en la solución del suelo (Antoniadis 1998; Ginocchio, 2007; Jardine *et al.*, 1992), reduce la adsorción de los metales sobre los constituyentes sólidos y facilita el transporte de metales en los suelos (Alloway, 1990; Guisquiani *et al.*, 1998; Santibáñez, 2006).

Es importante enfatizar que la acumulación de metales en las plantas depende en gran medida de la fracción biodisponible de los metales en el medio sobre el cual se desarrollan más que de los contenidos totales de metales (Antoniadis 1998). Esto concuerda con lo planteado por Santibáñez (2006), quien expresa que la concentración disponible de un metal es la que determina principalmente el nivel de acumulación en los tejidos de las plantas.

2.4.4.2 Acidez del suelo o sustrato (pH) y salinidad

La determinación del pH de los suelos resulta de interés, ya que las plantas sólo se desarrollan de modo adecuado dentro de un rango determinado de valores de este parámetro (Cuadro 1). Así también, la conductividad eléctrica del suelo es otro parámetro a tener en cuenta en el estudio de un suelo, ya que puede ser un factor limitante del desarrollo vegetal, como se muestra en el cuadro 1 (Alarcón, 1998; Ginocchio y Narváez, 2002).

Cuadro 1.-Escala de acidez del suelo y de salinidad.

pH	Clasificación	CE (ds/m)	Clasificación
< 5,0	Fuertemente ácido	< 2,0	No salino
5,1 a 6,5	Moderadamente ácido	2,0 a 3,9	Muy ligeramente salino
6,6 a 7,3	Neutro	4, 0 a 7,9	Ligeramente salino
7,4 a 8,5	Moderadamente alcalino	8,0 a 15,9	Moderadamente salino
> 8,5	Fuertemente alcalino	> 16	Fuertemente salino

Fuente: Etchevers (1980) y Santibáñez (2005).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Sitio de estudio

Este estudio se realizó en el marco de un ensayo piloto de fitoestabilización, que se estableció a mediados del año 2005 en el tranque de relaves El Cobre de la mina El Soldado, Comuna de Nogales, V Región, perteneciente a Anglo American Chile (UTM 6,383,302 N – 298,939 E). Este ensayo piloto forma parte del proyecto Innova-Chile CORFO 04CR9IXD-01 (2005-2007), del CIMM e INIA, titulado "Uso de recursos fitogenéticos nativos para la fitoestabilización de relaves mineros en la Región de Coquimbo".

En la actualidad, una gran parte de la superficie del tranque se encuentra parcialmente forestada, principalmente con eucalipto (*Eucalyptus globulus*) y aromos australianos (*Acacia melanoxylon*). La plantación arbórea se realizó entre los años 1980 y 1990 (Gutiérrez y Hoffmann, 1991; Devia, 1992), mostrando un escaso desarrollo en altura, diámetro del tronco y copa (Devia, 1992). Durante algunos años (1980 a 1990), estas plantas recibieron fertilización mineral, especialmente nitrógeno, pero su efecto fue muy acotado en el tiempo (Devia, 1992). A partir del año 1990, se detuvo completamente los programas de mantención de los árboles, debido a sus altos costos y a la baja efectividad (Devia, 1992).

3.1.2 Ensayos analizados

El ensayo piloto de fitoestabilización comenzó en Junio de 2005. En esa fecha se realizó la definición del diseño experimental, la selección de los lugares específicos dentro del

tranque, la caracterización físico-química de los relaves en los sitios experimentales, la caracterización química de los mejoradores de sustrato seleccionados para esta experiencia y el traslado y acopio de los mejoradores de sustrato en el tranque. En el tranque se seleccionaron dos áreas de experimentación; una zona abierta (sin cubierta vegetal o forestación previa) y una zona previamente forestada con eucalipto y aromos australianos (Figura 1).

Figura 1. Zonas de establecimiento del ensayo piloto de fitoestabilización en el tranque de relaves El Cobre de la Mina El Soldado de Anglo American Chile, comuna de Nogales, V Región. Foto izquierda: zona no forestada. Foto derecha: zona forestada.



3.1.2.1 Caracterización del sitio: Zona forestada y abierta (sin cubierta vegetal)

Zona forestada:

El ensayo experimental en la zona previamente forestada se instaló en Julio de 2005, estableciéndose tres tratamientos en parcelas experimentales de 5m x 5m. Cada tratamiento consideró tres repeticiones. Los tratamientos correspondieron a:

- TC – Tratamiento control, sin incorporación de enmiendas.
- TBm - Incorporación al relave (entre 0 y 20cm de profundidad) de biosólidos¹ en dosis de 400 Mg ha⁻¹.

¹ Los biosólidos provienen del monorelleno de la Planta “El Trebal” de Aguas Andinas y presentan características físicoquímicas y microbiológicas aceptables. Además, cumplen con lo establecido en Chile por el Anteproyecto de Reglamento CONAMA (2000) para su uso benéfico en los suelos (Aguas Andinas, 2004).

- TSE – Incorporación de una capa superficial de 5cm de suelo de escarpe² extraído del sector aledaño al muro del tranque de relaves actualmente en operación (Tranque El Torito).

Luego de aplicados los tratamientos, cada parcela fue sembrada con Ballica perenne (*Lolium perenne* var. *nui*), en una dosis de 1,6 kg de semillas por cuadrante (25 m²). En Junio del 2006, las parcelas fueron re-sembradas con una mezcla de semillas de especies silvestres (pastos y herbáceas), colectadas en las zonas aledañas al tranque de relaves El Cobre, en una dosis de 70,8 gramos de semillas por cuadrante. Además, se transplantó a cada cuadrante 8 plántulas de las especies nativas Belloto del Norte (*Beilschmiedia miersii*) y Peumo (*Cryptocarya alba*).

Zona abierta (sin cubierta vegetal)

El ensayo experimental de la zona abierta (no forestada) se instaló en Marzo del 2006, estableciéndose seis tratamientos en parcelas experimentales de 5m x 5m. Cada tratamiento consideró tres repeticiones. Los tratamientos correspondieron a:

- TC - Control (sin intervención)
- TBm2 - Incorporación al relave superficial (entre 0 y 20cm de profundidad) de biosólidos en dosis de 200 Mg ha⁻¹.
- TBm4 - Incorporación al relave superficial (entre 0 y 20cm de profundidad) de biosólidos en dosis de 400 Mg ha⁻¹.
- TBs - Aplicación de biosólidos en superficie al relave (200 Mg ha⁻¹).
- TBCm – Incorporación al relave superficial (entre 0 y 20cm de profundidad) de mezcla de biosólido + astillas de madera de eucalipto en dosis de 200 Mg ha⁻¹.
- TSE – Incorporación al relave superficial (entre 0 y 20cm de profundidad) de mezcla de biosólido+ astillas de madera de eucalipto en dosis de 67 Mg ha⁻¹, más una capa superficial de 5cm de suelo de escarpe.

² Suelo de escarpe, corresponde a suelo superficial extraído desde los primeros 5-10cm de suelo en los sectores planos aledaños al tranque de relaves operativo de la planta minera (Tranque El Torito), el que ha sido acopiado para uso posterior.

Las astillas de madera de eucalipto (dimensiones aproximadas de 2 a 6cm de diámetro y 3 a 8mm de espesor) fueron mezcladas con los biosólidos en una proporción volumétrica de astillas: biosólido centrifugado³: biosólido seco⁴ de 1:1:1.

Luego de aplicados los tratamientos, cada parcela fue inmediatamente sembrada con una mezcla de semillas de especies silvestres del área (pastos y herbáceas), colectadas en las zonas aledañas al tranque de relaves El Cobre, en una dosis de 70,8 gramos de semillas por cuadrante. Adicionalmente se transplantaron plántulas de ocho especies leñosas nativas: Belloto del Norte (*Beilschmiedia miersii*), Quillay (*Quillaja saponaria*), Litre (*Lithrea caustica*), Colliguay (*Colliguaja odorifera*), Romerillo (*Baccharis linearis*), Espino (*Acacia caven*), Chagual (*Puya berteroniana*) y Palma chilena (*Jubaea chilensis*). A diferencia de los cuadrantes experimentales establecidos en la zona previamente forestada, el ensayo experimental de la zona abierta fue cercado perimetralmente para impedir el acceso de los conejos y del ganado (bovino y caballar), presente en el área.

3.2 Método

3.2.1. Extracción de muestras para análisis físico, químico y microbiológico

En el mes de Mayo de 2007, de cada parcela experimental se tomó una muestra compuesta⁵ de sustrato superficial (0-20cm profundidad), utilizando un barreno de acero inoxidable de

³ Biosólido centrifugado corresponde al biosólido estabilizado, obtenido después de una digestión anaeróbica o aeróbica que es sometido a diversos procesos de deshidratación. Contiene un 25% de sólido y 75% de agua.

⁴ Biosólido seco corresponde al biosólido estabilizado, obtenido después de una digestión anaeróbica o aeróbica que es sometido a diversos procesos de deshidratación y es sometido como proceso final a secado solar o biológico. Contiene un 60% de sólido y un 40% de agua.

⁵ Para lograr una homogenización de las muestras, se tomó al azar tres muestras de cada parcela, una en el centro de la parcela, la segunda a un radio de 1m desde el punto medio de cada parcela y la tercera a un radio de 2m del centro de la parcela, estas se mezclaron homogéneamente y generaron la muestra compuesta.

percusión manual (4cm de diámetro y 20cm de largo). Las muestras extraídas fueron almacenadas en bolsas plásticas con cierre hermético, adecuadamente rotuladas, para ser luego trasladadas al Laboratorio de Fitotoxicidad y Fitorremediación del CIMM, donde se refrigeraron a 5°C hasta su análisis.

3.2.2. Extracción de muestras para determinar la distribución y biomasa de raíces

Para evaluar la distribución de las raíces y su peso seco, de cada parcela se tomaron aleatoriamente dos muestras de relaves. Las muestras fueron tomadas en el mes de Septiembre de 2007. En el sector forestado, las muestras se tomaron hasta una profundidad de 50cm y para el sector abierto hasta 30cm. Para esto se utilizó un barreno de percusión de acero inoxidable de 50cm de largo y 2,5cm de diámetro. Cada muestra obtenida fue seccionada a profundidades de 0-10, 10-20, 20-30, 30-40 y 40-50 cm para el sector forestado y de 0-10, 10-20, 20-30 cm para el abierto. Cada sección se dispuso en una bolsa plástica, la cual fue trasladada al laboratorio, donde se conservaron a 5°C hasta su análisis.

3.2.3 Análisis de laboratorio

Los análisis fueron realizados en los laboratorios de Analítica de Suelos y Plantas y de Fitotoxicidad y Fitorremediación del Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, CIMM, Región Metropolitana.

3.2.3.1 Retención de agua a “capacidad de campo”

La retención de agua de los sustratos a “Capacidad de Campo” corresponde a la máxima cantidad de agua que puede retener un suelo o sustrato luego que el agua de gravedad se ha perdido por percolación. Esta cantidad es determinada indirectamente mediante el método de Klute (1986), donde se realiza la saturación de las muestras y posterior drenaje de éstas por 12 horas. Las muestras de sustrato fueron puestas en tubetes plásticos de 4 x 14,5cm,

los que posteriormente se colocaron sobre un contenedor con agua desionizada. El agua se traspasó a los tubetes con sustrato mediante capilaridad. Una vez saturadas las muestras, éstas fueron extraídas del contenedor permitiendo el drenaje por gravedad. Cada tubete contenía una espuma absorbente en su parte inferior la cual permitió un drenaje más expedito desde el sustrato hacia el exterior de éste. El proceso de evaporación de agua desde las muestras de sustrato se evitó mediante la aplicación de una cubierta plástica en la parte superior del tubete. El contenido de agua a capacidad de campo se calculó por gravimetría.

3.2.3.2 Actividad y biomasa microbiana

La actividad microbiana de los sustratos se efectuó mediante la determinación de la evolución de CO₂. Se utilizaron recipientes plásticos herméticamente sellados que contenían 50g de muestra. Estos recipientes fueron humedecidos con agua desionizada hasta un 70% de la Capacidad de Campo, la que se obtuvo mediante la metodología descrita en el punto anterior. Los recipientes, conteniendo las muestras respectivas, fueron introducidos a una incubadora durante 21 días (Figura 2), a una temperatura constante de 28°C, reponiéndose la humedad en base a la pérdida en peso. Cada recipiente contenía una trampa de álcali (NaOH), la que captó el CO₂ generado desde el sustrato. La cantidad de CO₂ generado se determinó por titulación mediante la metodología descrita por Anderson (1982). Tanto la reposición de las trampas (viales) con hidróxido de sodio (NaOH), como las mediciones de la respiración microbiana se realizaron en forma diaria.

Se determinó la biomasa microbiana (BM), en base al C-CO₂ según el método de Fumigación-Incubación con cloroformo (Método ISO 14240-1:1997(E), Figura 2), descrita por Jenkinson y Powlson (1976). Cada muestra se dividió en seis submuestras (base peso seco): 3 fueron fumigadas con cloroformo antes de la incubación y 3 incubadas como testigos sin fumigar. Las muestras fumigadas fueron sometidas a una breve incubación en un contenedor cerrado con cloroformo para eliminar la población microbiana.

Subsecuentemente, los vapores de cloroformo fueron removidos y las muestras fueron re-inoculadas con una pequeña cantidad de sustrato fresco. Se observa un flujo de CO₂, debido a la liberación de compuestos de carbono (C) lábiles provenientes de la descomposición de la población microbiana que fue eliminada

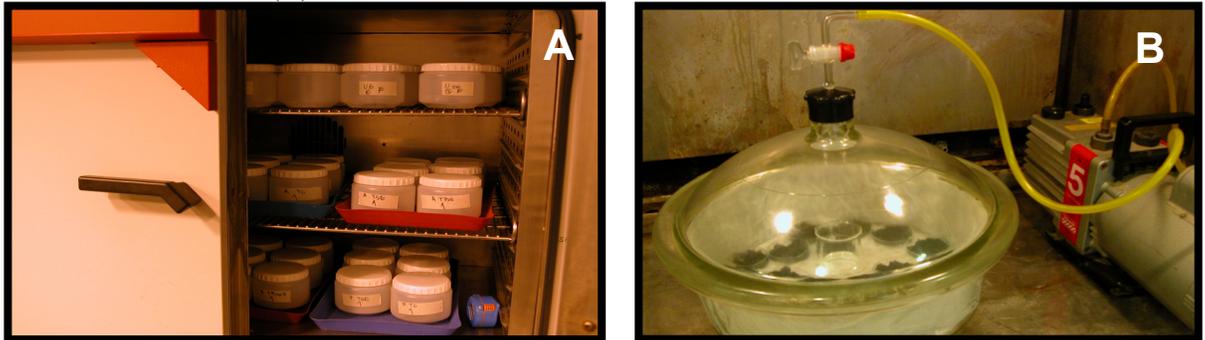
. El C liberado como CO₂ durante los 10 días de incubación se relaciona cuantitativamente con la biomasa microbiana inicial. Generalmente, el flujo de CO₂ corresponde al 45% del C mineralizado de la BM (Gregorich *et al.*, 1990). La cuantificación de la biomasa microbiana de carbono (BM_C) se realizó según la siguiente fórmula:

$$BM_C = \frac{CO_2 \text{ del suelo fumigado} - (0,18 * CO_2 \text{ del suelo no fumigado})}{Kc}$$

Donde, *Kc* es la fracción de biomasa microbiana carbonada que será mineralizada bajo las condiciones del ensayo. El valor de *Kc* empleado fue de 0,45 según lo sugerido por Jenkinson y Ladd (1981). Se utilizó el 18% del valor de CO₂ del suelo no fumigado según lo sugerido por Smith *et al* (1995).

En las muestras de sustrato utilizadas para cuantificar la BM se determinó la actividad respiratoria midiendo el CO₂ desprendido de una muestra de sustrato incubada en frascos herméticos a 28°C durante 10 días (Dommergues, 1968). La respiración del sustrato es una medida de su actividad. Su determinación proporciona información concerniente a la cantidad de biomasa que está activa en el sustrato (García y Hernández, 1997).

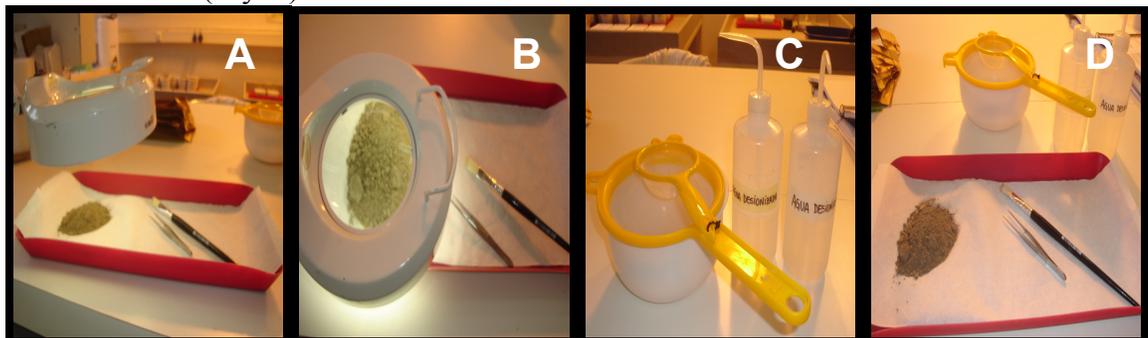
Figura 2: Incubación de las muestras durante la determinación de la actividad microbiana (A) y etapa de fumigación con cloroformo de las muestras durante la determinación de la biomasa microbiana (B).



3.2.3.3 Determinación de la distribución espacial y biomasa de las raíces

Se procedió a separar las raíces del sustrato colectado usando el método de lavado de raíces con agua desmineralizada (Ginocchio *et al.*, 2002; Figura 3). Para el sector forestado, se consideraron las raíces cuyos diámetros fuesen menores a 5mm y para el sector abierto, las raíces cuyos diámetros fuesen menores a 3mm. Los tejidos vegetales obtenidos de cada muestra se guardaron en bolsas de papel, posteriormente fueron secadas en una estufa con aireación forzada a 45°C, hasta peso constante. A continuación se registró el peso seco con una balanza de precisión.

Figura 3: Lavado de raíces desde el sustrato experimental con agua desmineralizada. Separar manualmente las raíces visibles (A y B) y a continuación lavar con agua desmineralizada el sustrato, a través de 2 coladores de diferente tamaño para retener las raíces más finas (C y D).



3.2.3.4 Características químicas del agua de poro

Las muestras de sustrato obtenidas, de los distintos tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada y abierta del tranque de relaves, fueron utilizadas en el laboratorio para extraer muestras de agua intersticial o agua de poro.

Las muestras provenientes de cada situación y tratamiento fueron secadas al aire, posteriormente dispuestas en tubetes plásticos de 4 x 14,5cm y finalmente humedecidas con agua desionizada hasta 60% de capacidad de campo. En cada tubete se insertó un muestreador de agua de poro de 5cm de longitud (Rhizon Soil Moisture Samplers, Rhizosphere Research Products, Wageningen, Holanda), el que extrajo el agua desde el sustrato mediante presión negativa (Figura 4), siguiendo la metodología descrita en Vulkan *et al* (2000). El agua colectada fue analizada en términos de pH y conductividad eléctrica mediante conductivimetría. El proceso de extracción y monitoreo se efectuó diariamente hasta completar un volumen extraído de 30ml. El agua extraída desde las muestras fue repuesta con agua desionizada hasta completar nuevamente un contenido de agua equivalente a 60% de capacidad de campo. Una vez obtenido un volumen de 30ml de solución por cada muestra, se utilizaron 20ml para determinar el carbono orgánico disuelto (COD), mediante el método U.S. EPA 415.1 (USEPA, 1983) y 10ml para determinar las concentraciones totales de Cu y Zn, mediante espectrometría de absorción atómica (Perkin Elmer Analyst 300).

Figura 4: Obtención de agua de poro desde los sustratos experimentales. Los muestreadores cerámicos de agua de poro no son visibles en la imagen.



3.2.4 Análisis estadístico

Para los ensayos en el sector forestado, se utilizó un diseño experimental simple completamente al azar con tres tratamientos diferentes y tres repeticiones para cada uno. Para los ensayos del sector abierto, se utilizó un diseño experimental en bloque completamente al azar con seis tratamientos y tres repeticiones para cada uno. Se consideraron los dos sectores (forestado y abierto), como experimentos distintos.

Para el análisis del contenido de carbono orgánico disuelto y las concentraciones de Zn y Cu presentes en el agua de poro, tanto para el sector forestado como el abierto, no se realizó análisis estadístico, debido a la dificultad de obtener una muestra representativa para dicho análisis; es por esta razón que en esta investigación se presentan para estos parámetros sólo gráficos de tendencia.

Para el caso de la actividad microbiana, biomasa microbiana, biomasa y distribución radicular, pH y CE del agua intersticial o agua de poro, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), que consistió en comparar los promedios de las variables físicas, químicas y microbianas de los tratamientos para establecer si existían diferencias significativas entre ellos, y de ellos con el control. Por otro lado, se realizó una comparación adicional entre grupos de medias de los tratamientos, a través de la Prueba de Intervalos Múltiples de Duncan con un nivel de significancia de 5% ($\alpha=0,05$), para especificar entre cuales tratamientos se presentaron las diferencias. Para todos los análisis se utilizó el programa estadístico MINITAB 13 (Minitab Inc., EE.UU.).

En forma adicional, la actividad microbiana, expresada en valores acumulados en el tiempo de incubación, fue analizada mediante un modelo de primer orden de la forma (Smith *et al.*, 1995):

$$C_t = C_o (1 - e^{-kt})$$

Donde,

C_t : Monto acumulado de carbono mineralizado al tiempo t (días).

C_o : Carbono potencialmente mineralizable.

Kt : Fracción de C mineralizado por día o tasa de mineralización al tiempo t (días).

El modelo fue ajustado a las curvas de C-CO₂ acumulados en el tiempo mediante el método de los mínimos cuadrados y aplicando un ajuste de optimización numérica (Solver, MS Excel).

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ZONA FORESTADA

4.1.1 Actividad microbiana

La actividad biológica del suelo o de un sustrato cualquiera está referida a la actividad metabólica de la microflora edáfica y puede ser cuantificada midiendo el desprendimiento de CO₂ de muestras de suelo o sustratos similares.

4.1.1.1 Emisión total de CO₂

En el caso de las muestras de sustrato, los resultados de emisión diaria de CO₂, para cada tratamiento, fueron acumulados con el propósito de obtener la cantidad total de CO₂ liberado hasta el término de la incubación (28 días).

En la Cuadro 2 se muestran las emisiones totales de CO₂ para los sustratos experimentales del sector forestado del tranque en estudio. Es posible observar que al término de la incubación (28 días), el C emitido como CO₂ (C-CO₂), es significativamente mayor en el único tratamiento al que se aplicó biosólidos. Los resultados mostraron que las tasas de respiración de los relaves sin biosólidos variaron entre 10 y 22 mg C- CO₂/100g muestra, mientras que el que contenía biosólidos aumentó su tasa de respiración a 133 mg C- CO₂/100g muestra. El orden de emisión de CO₂ de las muestras analizadas, de mayor a menor, es el siguiente: aplicación de biosólidos en mezcla > incorporación superficial de suelo de escarpe > control (relave solo).

Santibáñez (2006) y García y Hernández (1997), plantean que el uso de enmiendas orgánicas, podría beneficiar la recuperación de la actividad microbiana en sistemas degradados, tales como tranques de relaves, lo que se hace efectivo en este estudio, en que

el tratamiento con incorporación de biosólidos (400 Mg ha⁻¹), en mezcla (0-20cm profundidad), obtuvo las mayores emisiones totales de C-CO₂. Estos resultados sugieren que el acondicionamiento de relaves mineros de cobre con biosólidos de sustratos orgánicos permite restituir la actividad microbiana, al menos en el corto plazo.

Cabe destacar que el tratamiento F-TC tuvo valores muy bajos de desprendimiento de CO₂, lo cual sugiere que la materia orgánica, acumulada sobre el relave, proveniente de las plantas existentes en el sector, estaría siendo utilizado, en forma muy menor, por los microorganismos del relave sin tratar.

Cuadro 2.- Emisión total de C-CO₂ desprendido para los tratamientos analizados en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de 28 días de incubación. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla, TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05) entre los tratamientos.

Tratamiento	mg C-CO₂ / 100 g de muestra
F-TBm	133,18 a
F-TSE	21,24 b
F-TC	10,39 b

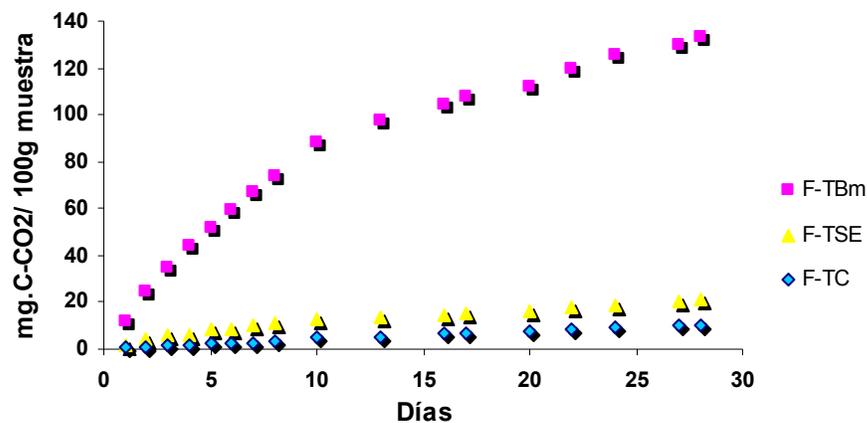
4.1.1.2 Evolución del carbono orgánico desprendido como CO₂

En la figura 5 se observa que la emisión diaria acumulada de CO₂ emitido para los distintos tratamientos aplicados en el tranque de relaves El Cobre de la mina El Soldado, zona forestada, es creciente durante el tiempo de incubación (28 días). La figura 5, permite observar que el tratamiento control y la incorporación de suelo de escarpe son los que presentan menores emisiones, siendo levemente superior en la segunda fase de incubación (últimos 14 días), finalmente es la aplicación de biosólidos la que muestra las mayores emisiones diarias acumuladas.

Es posible distinguir una primera fase, caracterizada por una alta intensidad respiratoria (primeros 14 a 15 días) y una segunda fase, en donde las pendientes de las curvas disminuyen, reflejando un descenso en la intensidad respiratoria de los microorganismos. Estos resultados concuerdan con el planteamiento de Frioni (1990), que señala que los tratamientos preliminares de la muestra alteran su equilibrio biológico, por lo que la

actividad de la microbiota se estimula al comienzo del ensayo; luego de ese período, la respiración disminuye constantemente hasta estabilizarse. Este potencial efecto de estimulación inicial generado artificialmente, debe considerarse con precaución pues, conjuntamente, las altas intensidades iniciales de emisión de CO₂ reflejarían la presencia de carbono de disponibilidad inmediata en los sustratos orgánicos provenientes de compuestos fácilmente degradables (Santibáñez, 2006; Levi-Minzi *et al.*, 1990). Esto es conocido como efecto de estimulación o “priming effect”, el cual se debe a la mineralización acelerada de la materia orgánica producto de la incubación en condiciones óptimas (Fuentes, 2008)⁶. A su vez Varnero (1980), plantea que la actividad microbiana se incrementa en razón de los niveles de materia orgánica presentes en los suelos al inicio del experimento.

Figura 5.- Emisión diaria acumulada de C-CO₂ para los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, durante 28 días de incubación. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TSE, tratamiento con suelo de escarpe en superficie.



4.1.1.3 Tasa de mineralización del carbono orgánico

El carbono potencialmente mineralizable (C_0), la tasa de mineralización de C (k) y el tiempo que se requiere para mineralizar el C ($1/k$), de las muestras analizadas, para el sector

⁶ Dr. Juan Pablo Fuentes Espoz, Comunicación personal, 2008.

forestado, son parámetros obtenidos a partir del ajuste del modelo (definido en el punto 3.2.4) a las curvas acumuladas de respiración (Cuadro 3). El tratamiento que presenta aplicación de biosólidos, es el que muestra una mayor tasa de mineralización de C y menor tiempo para la mineralización de éste. Se considera que el C es un indicador de la materia orgánica de reserva de los suelos; por lo tanto a menor pérdida de C orgánico, más se favorece la mantención e incremento de la reserva orgánica del suelo o sustrato. Al igual que lo expuesto en el trabajo de Santibáñez (2006), los resultados reflejan que al incorporar biosólidos, se produce un aumento en la actividad microbiana y por ende se incrementan las tasas de mineralización de C. Además, se puede observar que la aplicación de un mejorador de sustrato, tal como los utilizados (TBm y TSE), da como resultado un aumento en las tasas de mineralización del C y por ende, un menor tiempo para mineralizarlo, comparado con el tratamiento control.

Cuadro 3.- Carbono potencialmente mineralizable (C_0), fracción de C mineralizado por día o tasa de mineralización (k) y tiempo que se requiere para mineralizar el C ($1/k$) para los tratamientos en sector forestado. Datos obtenidos a partir del ajuste del modelo de mineralización en un período de 28 días. Valores en paréntesis corresponden al error estándar de la media ($n=3$).

Tratamiento	C_0 (mg C-CO₂/100 g)	k (días⁻¹)	$1/k$ (días)
F-TBm	139,5 (9,0)	0,09 (0,01)	10,8 (0,88)
F-TSE	24,3 (4,1)	0,09 (0,03)	14,6 (4,01)
F-TC	59,7 (51,5)	0,03 (0,01)	89,4 (67,20)

4.1.2 Biomasa microbiana

4.1.2.1 Carbono de la biomasa microbiana (BM_C)

El carbono de la BM_C es un parámetro indicativo de la cantidad total de microorganismos existentes en el sustrato, englobando tanto los microorganismos que se encuentran activos como los que se encuentran en estado latente. El BM_C es una fracción orgánica relativamente lábil, controlada por factores ambientales y otros relacionados con la producción y el manejo (Fornasero *et al.*, 1999).

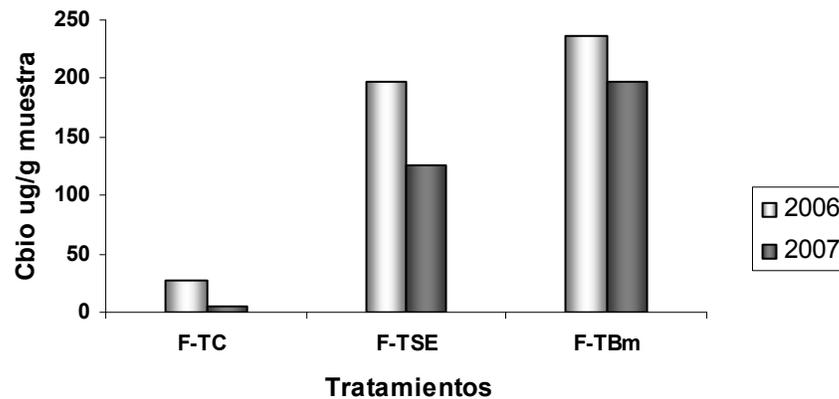
Los datos de BM_C de los sustratos obtenidos para los diferentes tratamientos, del sector forestado, se presentan en la Cuadro 4. El C emitido como CO_2 ($C-CO_2$), en el tratamiento al que se aplicó biosólidos (TBm), es significativamente mayor que el tratamiento con suelo de escarpe (TSE) y el tratamiento control (TC). Al realizar una comparación de la BM_C de un suelo aledaño al tranque de relaves (control positivo), con las muestras de sustrato experimentales analizadas, es posible apreciar que el aporte de enmiendas orgánicas tiene como consecuencia directa un aumento en la biomasa microbiana, lo que concuerda con lo planteado por Powlson *et al* (1987), quienes indican que no es extraño que los suelos que presentan mayor contenido de materia orgánica sean los que presentan también mayores valores de carbono de biomasa microbiana. Anderson y Domsch (1989), también exponen que la adición de mejoradores de sustrato incrementa tanto la actividad microbiana como la cantidad de BM_C del suelo.

Cuadro 4.- Carbono en la biomasa microbiana (BM_C) de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de 10 días de incubación. Se incorpora un control positivo, correspondiente a un suelo silvestre presente en la zona de emplazamiento del tranque de relaves El Cobre. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

Tratamiento	BM_C $\mu gC/g$ muestra
F-TBm	751,1 a
F-TSE	382,6 b
F-TC	239,4 b
Suelo	424,5 b

Al analizar la evolución temporal (anual) del BM_C , en los sustratos experimentales (Figura 6), se observa que éste ha disminuido en todos los tratamientos. Esto se explicaría por el hecho que el material orgánico de la enmienda se va degradando con el tiempo.

Figura 6.- Variación temporal del C- Biomasa microbiana del sustrato para los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de un año (2006) y de dos años (2007) desde la incorporación de los mejoradores al relave, expresados en $\mu\text{gC/g}$ suelo seco. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TSE, tratamiento con suelo de escarpe.

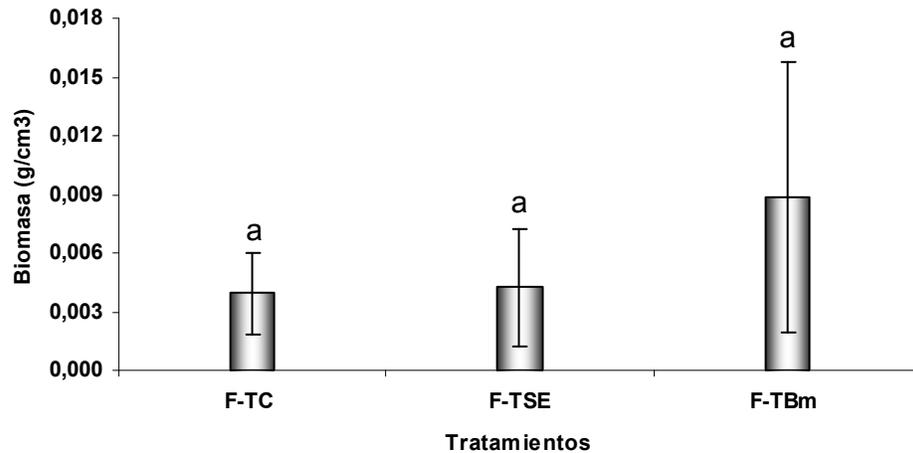


4.1.3 Biomasa y distribución de las raíces

4.1.3.1 Biomasa de las raíces (peso seco)

En la figura 7 se muestra la biomasa total de raíces, presente en los distintos ensayos experimentales de la zona forestada del tranque en estudio. No existieron diferencias significativas en la biomasa de raíces entre los tres tratamientos analizados, fundamentalmente debido a la gran variabilidad al interior de cada tratamiento (variabilidad entre muestras de un mismo tratamiento). A modo de tendencia, la biomasa de raíces tendió a ser mayor en el tratamiento con aplicación de biosólidos. La distribución y densidad de raíces determina el volumen de suelo aprovechable para la absorción de agua y nutrientes por la planta (Giulivo y Pitacco, 1997). Es importante mencionar que los resultados encontrados son producto de la alta heterogeneidad existente en una investigación de terreno, pues los ensayos experimentales están expuestos a diversos factores no controlados tales como variaciones microambientales y microtopográficas (variabilidad espacial), como así también a la variabilidad interanual. En este último aspecto, el año 2007 fue particularmente frío y poco lluvioso, por lo que el desarrollo vegetal fue en general bajo.

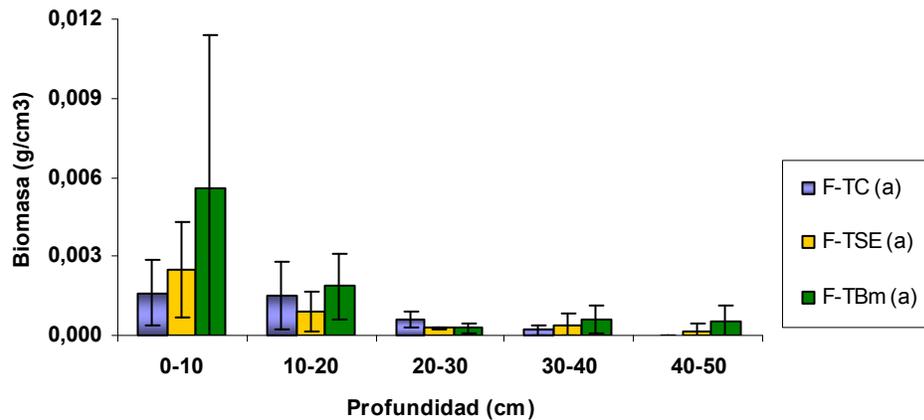
Figura 7.- Biomasa de raíces (peso seco), presente en los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. Se indica el promedio y la desviación estándar. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.



4.1.3.2 Distribución de las raíces

Como muestra la figura 8, y al igual que en la biomasa de raíces, no existen diferencias significativas entre los tres tratamientos analizados, particularmente debido a la alta variabilidad dentro de cada tratamiento. Sin embargo, se observa una tendencia a una mayor biomasa de raíces en la capa superficial (0-10 cm), en el tratamiento con aplicación de biosólidos, disminuyendo en el perfil del suelo. Esta capa superficial (0-10 cm) corresponde a la capa con mayor incorporación de biosólidos, debido a la profundidad de las aspas del motocultivador usado para la incorporación del biosólidos al relave. Este análisis fue llevado a cabo con las muestras utilizadas en la determinación de la biomasa de raíces y por ende, están expuestas a las mismas condiciones experimentales que se mencionaron en punto anterior (4.1.3.1).

Figura 8.- Distribución espacial de la biomasa de raíces (peso seco), según profundidad, para los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. Se indica el promedio y la desviación estándar. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

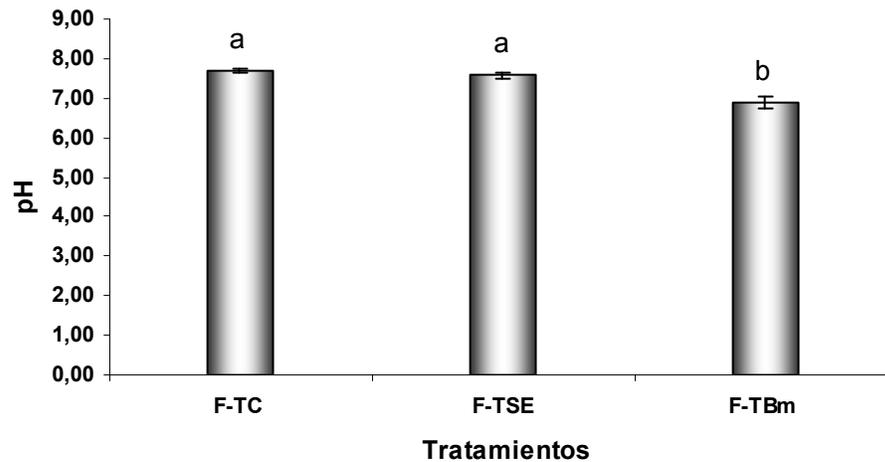


4.1.4 Características químicas del agua de poro

4.1.4.1 pH

El pH del agua de poro, para los distintos tratamientos experimentales, de la zona forestada y sus desviaciones estándar se indica en la figura 9. Se observa que los tratamientos control y con aplicación superficial de suelo de escarpe poseen un pH moderadamente alcalino, mientras que la aplicación de biosólidos redujo significativamente el pH del agua de poro, presentando un valor casi neutro, según escala de salinidad de Etchevers (1980). Estos resultados se deben posiblemente a que al incorporar biosólidos al tranque se incorpora también materia orgánica, la que acidifica el sustrato al descomponerse (Gambrell *et al.*, 1991; Alcañiz *et al.*, 1998).

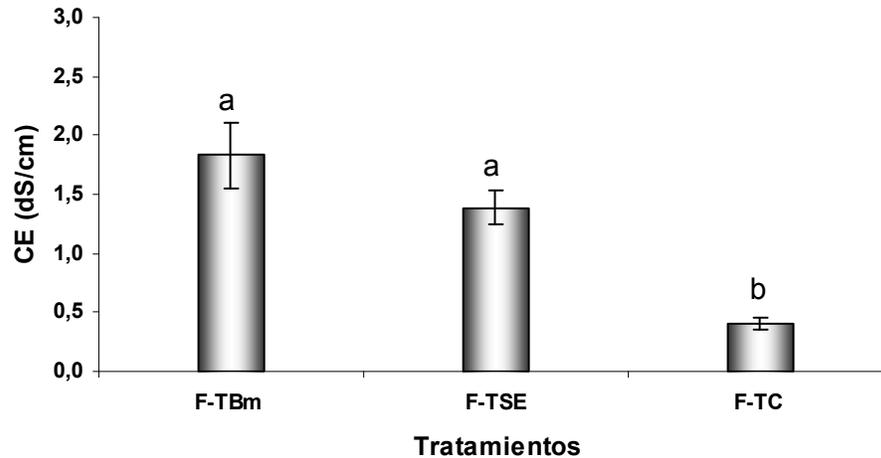
Figura 9.- pH del agua de poro de los tratamientos experimentales, establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. Se indica el promedio y la desviación estándar. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla, TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.



4.1.4.2 Conductividad eléctrica

Al observar los resultados de la conductividad eléctrica (CE) y sus desviaciones estándar (Figura 10), es posible observar que los mayores valores se encontraron en los tratamientos con incorporación de biosólidos y con aplicación de suelo de escarpe, mientras que el tratamiento control presentó valores de CE significativamente menores a los otros dos tratamientos. Todos los tratamientos analizados presentaron un grado de salinidad inferior a los 2 dS m^{-1} , por lo que pueden ser clasificados como no salinos, según la clasificación usada para suelos (Santibáñez, 2005), lo que genera condiciones propicias para la vegetación.

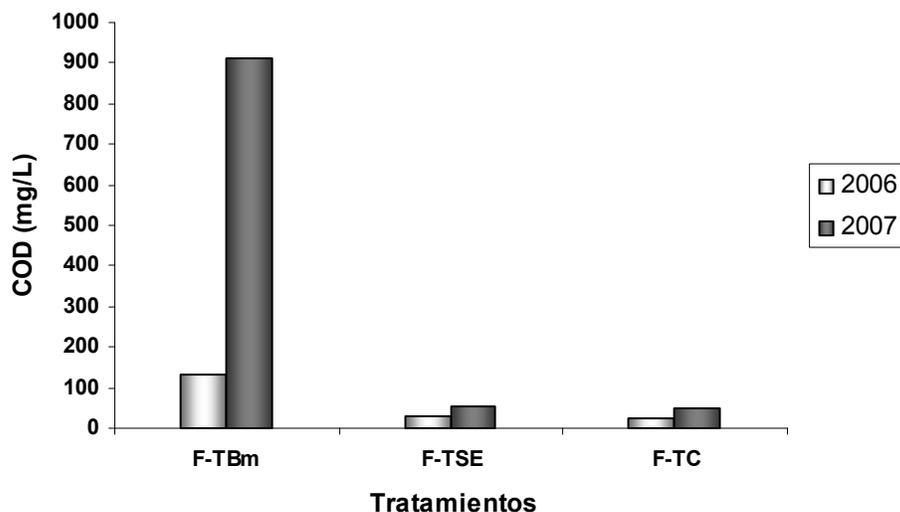
Figura 10.- Conductividad Eléctrica (CE) del agua de poro, para los sustratos de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. Se indica el promedio y la desviación estándar. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.



4.1.4.3 Carbono orgánico disuelto (COD)

Al observar la evolución del COD, en los ensayos experimentales de la zona forestada podemos apreciar que éste aumenta en el tiempo (figura 11), particularmente para aquel con aplicación de biosólidos. Estos resultados son concordantes con lo expresado por Ginocchio (2007, datos no publicados), quien plantea que la aplicación de biosólidos aumenta la carga de carbono orgánico disuelto (COD) en el agua intersticial o agua de poro, debido a que la materia orgánica contenida en los biosólidos no se encuentra en una forma completamente estable. Es visible en la figura 11, que el COD en el agua de poro aumentó en todos los tratamientos después de un año.

Figura 11.- Variación temporal del Carbono orgánico disuelto (COD) contenido en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de un año. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Comparación 2006-2007.



4.1.2.4 Cu y Zn total disuelto

Al momento de analizar el contenido total de Cu en el agua de poro se aprecia claramente la incidencia que tiene la aplicación de biosólidos en la cantidad de Cu total disuelto en el agua intersticial (Cuadro 5). Ginocchio (2007, datos no publicados), explica que al aumentar el COD en el agua intersticial, se genera una mayor fracción de cobre total soluble en el agua de poro, debido a la gran capacidad complejante o quelante de cationes polivalentes (entre ellos el Cu), por parte del COD. Para el caso del Zn total disuelto en el agua intersticial, los resultados fueron concordantes con los de Bowen (1979) y Santibáñez (2006). Se generó un leve aumento de Zn con la aplicación de biosólidos, sin embargo éstos fueron dentro de los rangos normales para suelos y bajo los límites de concentraciones consideradas críticas o tóxicas (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

Diversos autores señalan que en suelos acondicionados con biosólidos la presencia de COD aumenta la biodisponibilidad de los metales en la solución del suelo, facilitando la absorción de metales por las raíces de las plantas y el movimiento vertical de metales hacia

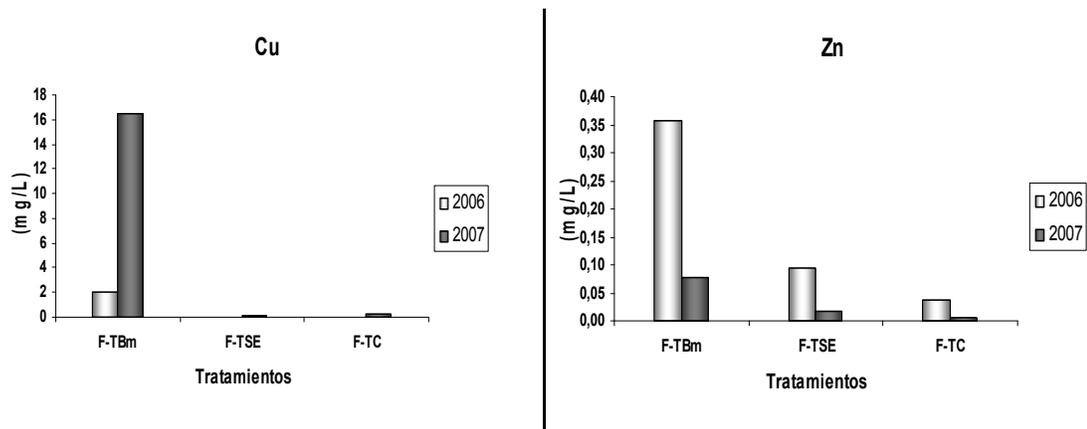
las estratas inferiores (Antoniadis, 1998; Guisquiani *et al.*, 1992; Santibáñez, 2006). Esto concuerda con los resultados encontrados en esta investigación.

Cuadro 5.- Metales totales disueltos en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla, TSE, tratamiento consuelo de escarpe.

Tratamiento	Cu (mg L⁻¹)	Zn (mg L⁻¹)
F-TBm	16,49	0,08
F-TSE	0,18	0,02
F-TC	0,31	0,01

Al comparar los resultados de esta investigación con resultados previamente obtenidos durante el 2006 (figura 12), se puede apreciar que el contenido de Cu del agua de poro en F-TBm (400 Mg ha⁻¹) aumentó considerablemente luego de un año. Los tratamientos control y F-TSE se incrementaron levemente. Estos resultados están en concordancia con el aumento de COD detectado y son similares a los encontrados por Santibáñez (2006). Al realizar la comparación de los resultados obtenidos para el Zn, se puede apreciar que éste disminuyó en el tiempo. Este fenómeno es explicado también por Santibáñez (2006), quien plantea que es esperable una disminución de las concentraciones solubles de metales una vez que se establezca la mineralización de las formas lábiles de carbono presentes en los biosólidos y una vez que la materia orgánica estabilizada contribuye a aumentar los sitios de adsorción y complejación de metales.

Figura 12.- Variación temporal del Cu y Zn total disuelto en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona forestada (F) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de un año (2006) y de dos años (2007) desde la aplicación de los mejoradores. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla, TSE, tratamiento con suelo de escarpe.



4.2 ZONA ABIERTA

4.2.1 Actividad microbiana

4.2.1.1 Emisiones totales de CO₂

Los resultados de emisión diaria de CO₂, para cada tratamiento, fueron acumulados con el propósito de obtener la cantidad total de CO₂ liberado hasta el término de la incubación.

El Cuadro 6 muestra la emisión total acumulada de C-CO₂, desprendido para los tratamientos experimentales de la zona abierta. En el de relave control fue de 5 mg C-CO₂/100g muestra, mientras que en los relaves mezclados con acondicionadores las emisiones fluctuaron entre 20 y 66 mg C-CO₂/100g muestra. Todos los tratamientos a los que se aplicó biosólidos superaron significativamente las emisiones del relave sin acondicionar (tratamiento control) y del relave al que se les aplicó suelo de escarpe superficial con biosólidos en mezcla (TSE). Este último tratamiento fue, a su vez, también significativamente superior al suelo control. El orden de emisión de CO₂ de los sustratos, de mayor a menor, es el siguiente: incorporación de biosólidos en sustrato de relaves (200 Mg ha⁻¹) (0-20cm) (A-TBm2) > aplicación de biosólidos en superficie (200 Mg ha⁻¹) (A-TBs), > incorporación de biosólidos en sustrato de relaves (400 Mg ha⁻¹) (0-20cm) (A-TBm4) > incorporación de biosólidos con astillas de madera en sustrato de relaves (200 Mg ha⁻¹) (0-20cm)(A-TBCm) > incorporación de biosólidos en mezcla con astillas de madera (67 Mg ha⁻¹) más una capa superficial suelo en escarpe (5cm) en sustrato de relaves (0-20cm) (A-TSE) > control (sin intervenir)(A-TC).

Los resultados obtenidos son semejantes a los encontrados por Barbarick *et al* (2004), quienes experimentaron durante algunos años con aplicaciones de biosólidos en ecosistemas naturales, en el oeste de Estados Unidos, en una zona con arbustos y otra con pastizales. Ellos concluyen que los biosólidos pueden contribuir a mejorar la calidad del suelo relacionada a la actividad microbiana, debido a que producen un aumento de la respiración (CO₂). Estos resultados también son equivalentes a los encontrados por Santibáñez (2006) y García *et al* (1993), los que plantean que el uso de enmiendas

orgánicas podría beneficiar la recuperación de la actividad microbiana en sistemas degradados, tales como tranques de relaves.

Cuadro 6.- Emisiones totales de C-CO₂ desprendido para los tratamientos ubicados en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de 28 días de incubación. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TBs, biosólidos en superficie; TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera; TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05) entre los tratamientos.

Tratamiento	Mg C-CO₂ / 100 g de muestra
A-TBm2	65,56 a
A-TBs	60,56 a
A-TBm4	59,12 a
A-TBCm	54,78 a
A-TSE	20,72 b
A-TC	5,11 c

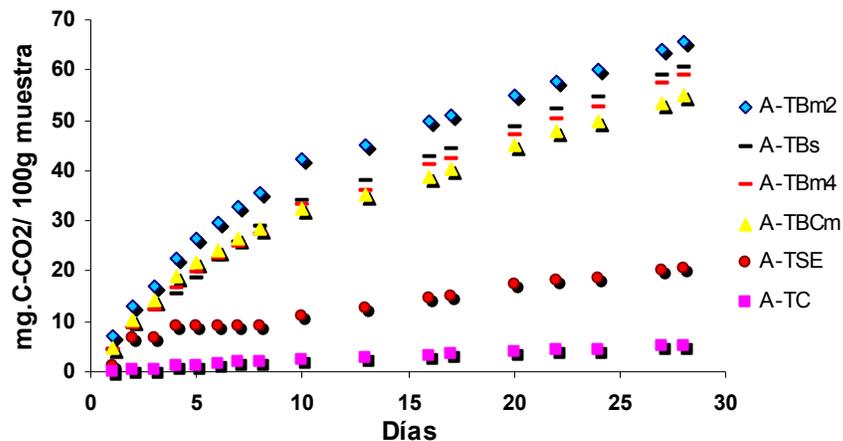
5.2.1.2 Evolución del carbono orgánico desprendido Como CO₂

La figura 13 muestra la emisión diaria acumulada de C-CO₂, durante el tiempo de incubación (28 días), para los distintos tratamientos aplicados en el sector abierto del tranque de relaves en estudio. Se observa que las cantidades acumuladas emitidas de CO₂ son crecientes en la medida que avanza la incubación. Es posible apreciar en las curvas, que los incrementos en las cantidades de CO₂ son cada vez menores hacia el final del período de incubación; por esta razón es posible distinguir en la gráfica una zona de cambio en la magnitud de la pendiente de las curvas, generando una etapa inicial de elevada intensidad respiratoria y una secundaria, en donde la intensidad respiratoria desciende provocando una disminución de la pendiente de las curvas. Los resultados son explicados por Frioni (1990), quien afirma que los tratamientos preliminares del suelo modifican su equilibrio biológico y la actividad de los microorganismos se estimula al comienzo de la experiencia, y que luego de un período de equilibrio desciende a valores más bajos pero constantes. Al igual que en la zona forestada, este potencial efecto de estimulación inicial artificial debe considerarse con precaución pues, como se explica en el punto 4.1.1.2, esto, posiblemente, ocurre por el

“priming effect”, el cual se debe a la mineralización acelerada de la materia orgánica producto de la incubación en condiciones óptimas (Fuentes, 2008)⁷.

La emisión diaria acumulada de CO₂, para los distintos tratamientos aplicados en el tranque de relaves en estudio es creciente en el tiempo (figura 13). En la muestra control analizada, la evolución del CO₂ en las primeras horas reflejaría el crecimiento y activación de la población microbiana autóctona (Jünemann, 1969). Es posible apreciar que las emisiones de los sustratos que fueron mezclados con biosólidos sin suelo de escarpe, fueron mayores que el tratamiento con biosólidos más suelo de escarpe (A-TSE), como también con el tratamiento control (A-TC). Estos resultados se deben posiblemente al efecto de dilución del A-TSE por la menor dosificación de biosólidos aplicado, así como también a la baja contribución del suelo de escarpe a la mineralización de los biosólidos. Los resultados son semejantes a los encontrados por Ortiz y Alcañiz (1998) cuando experimentaron con suelos enmendados con biosólidos.

Figura 13.- Emisión diaria acumulada de C-CO₂ para los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, durante 28 días de incubación. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla, TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera, TSE, tratamiento con suelo de escarpe.



⁷ Dr. Juan Pablo Fuentes Espoz, Comunicación personal, 2008.

4.2.1.3 Tasa de mineralización del carbono orgánico

La tasa de mineralización es equivalente al grado de mineralización de la materia orgánica expresado por el porcentaje del carbono orgánico inicial que se mineraliza en un período de tiempo determinado (Porta *et al.*, 1999).

En el cuadro 7 es posible observar el carbono potencialmente mineralizable (Co), las tasas de mineralización del C (k) y el tiempo que se requiere para mineralizar el C ($1/k$), de las muestras analizadas en el sector abierto, parámetros obtenidos a partir del ajuste del modelo (definido en el punto 3.2.4) a las curvas acumuladas de respiración. Los resultados demostraron que los tratamientos que recibieron alguna dosis de biosólidos, son los que presentan mayor cantidad de Co , seguidos por el tratamiento con aplicación de suelo de escarpe y finalmente el tratamiento control. Los mayores valores encontrados para K y a su vez, el menor tiempo que se requiere para mineralizarlo, se encontraron en los tratamientos en que los biosólidos fueron mezclados con astillas de madera (TBCm y TSE) y aquellos tratamientos que recibieron aplicación de biosólidos en mezcla con el relave, Los tratamientos con incorporación superficial de biosólidos y el tratamiento control tuvieron los mayores tiempos de mineralización. Los resultados del carbono potencialmente mineralizable (Co), pueden ser entendidos, ya que al parecer, éste se ve afectado principalmente por los biosólidos; todo indica que las astillas desaceleran el proceso de descomposición, ya que se trata de un material orgánico que demora mucho más en descomponerse. Las astillas, de hecho, requieren un fraccionamiento físico antes de comenzar una descomposición más acelerada.

Cuadro 7.- Carbono potencialmente mineralizable (Co), fracción de C mineralizado por día o tasa de mineralización (k) y tiempo que se requiere para mineralizar el C ($1/k$) para los tratamientos en sector abierto. Datos obtenidos a partir del ajuste del modelo de mineralización en un periodo de 28 días. Valores en paréntesis corresponden al error estándar de la media ($n=3$).

Tratamiento	Co (mg C-CO ₂ /100 g)	K (días ⁻¹)	$1/k$ (días)
A-TBCm	57,2 (5,2)	0,09 (0,01)	11,85 (1,04)
A-TBm2	67,4 (2,2)	0,09 (0,00)	10,73 (0,19)
A-TSE	21,5 (1,5)	0,09 (0,01)	12,14 (2,06)
A-TBm4	68,5 (4,4)	0,06 (0,00)	16,05 (1,06)
A-TBs	73,6 (1,7)	0,06 (0,01)	17,56 (2,27)
A-TC	9,7 (6,1)	0,03 (0,01)	32,33 (6,79)

4.2.2 Biomasa microbiana

4.2.2.1 Carbono de la biomasa microbiana (BM_C)

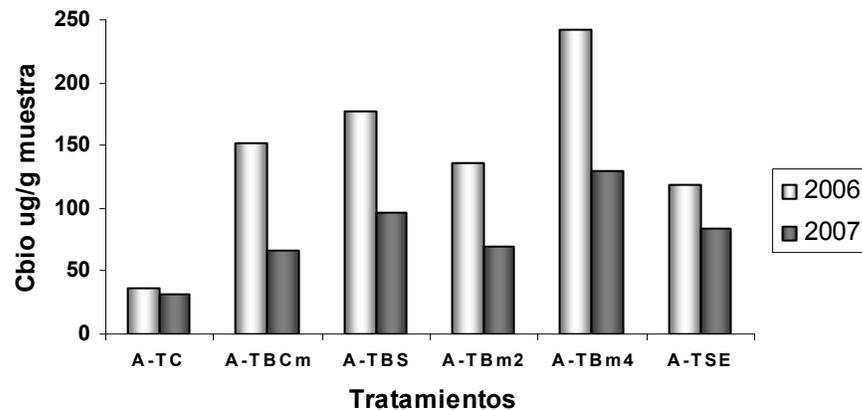
Los datos de BM_C de los sustratos obtenidos para los diferentes tratamientos del sector abierto se presentan en la Cuadro 8. El C emitido como CO₂ (C-CO₂) es significativamente mayor para el tratamiento con incorporación de biosólidos en dosis de 400 Mg ha⁻¹, el tratamiento con aplicación de biosólidos en superficie (200 Mg ha⁻¹), estos no presentan diferencias significativas con el suelo (control positivo). Por debajo de estos valores, es posible encontrar los 4 tratamientos restantes, en primer lugar la incorporación de biosólido con astillas en mezcla (i.e. 67 Mg ha⁻¹) más suelo superficial de escarpe, luego la incorporación de biosólido a los relaves (200 Mg ha⁻¹), seguido del tratamiento con incorporación de biosólido con astillas de madera en relaves (200 Mg ha⁻¹) y el tratamiento control (estos dos últimos sin diferencias significativas entre ellos). Estos resultados son concordantes con lo planteado por Powlson *et al* (1987), quienes indican que los suelos que presentan mayor contenido de materia orgánica suelen ser también los que presentan mayores valores de carbono de biomasa microbiana. Esto es explicado por otros autores (Jenkinson y Powlson, 1976, Anderson y Domsch, 1989, Jedidi *et al.*, 2004), al afirmar que la aplicación de materiales orgánicos al suelo incrementan la actividad y cantidad de biomasa microbiana y presentan una influencia directa sobre la fertilidad de los suelos.

Cuadro 8.- Carbono en biomasa microbiana (BM_C) de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de 10 días de incubación. Se incorpora un control positivo, correspondiente a un suelo silvestre presente en la zona de emplazamiento del tranque de relaves El Cobre. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera; TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas (p<0,05) entre los tratamientos.

Tratamiento	MBc µg C/g muestra
A-TBm4	477,78 a
Suelo	424,50 a
A-TBs	405,91 ab
A-TBCm	340,30 b
A-TBm2	283,62 bc
A-TSE	250,40 c
A-TC	196,90 c

Al analizar la evolución temporal de la BM_C en los sustratos experimentales del sector abierto (figura 14), se observó que la BM_C disminuyó en todos los tratamientos. Estos resultados sugieren que el acondicionamiento de relaves mineros de cobre con enmiendas orgánicas permite restituir rápidamente el carbono de la biomasa microbiana, sobre todo al momento de su incorporación y, por lo analizado, también en el corto plazo. Estos resultados muestran una tendencia que con la ayuda de una evaluación de la evolución temporal de la BM_C , a mayor plazo (de tres a cinco años), permitiría confirmar o no, que con la aplicación de enmiendas orgánicas a los relaves es posible asegurar la mantención de los microorganismos en el largo plazo.

Figura 14.- Variación temporal del C- Biomasa microbiana del sustrato para los tratamientos experimentales establecido en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región, al cabo de un año, expresados en $\mu\text{g C/ g}$ suelo seco. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera; TSE, tratamiento con suelo de escarpe.



4.2.3 Biomasa y distribución de las raíces

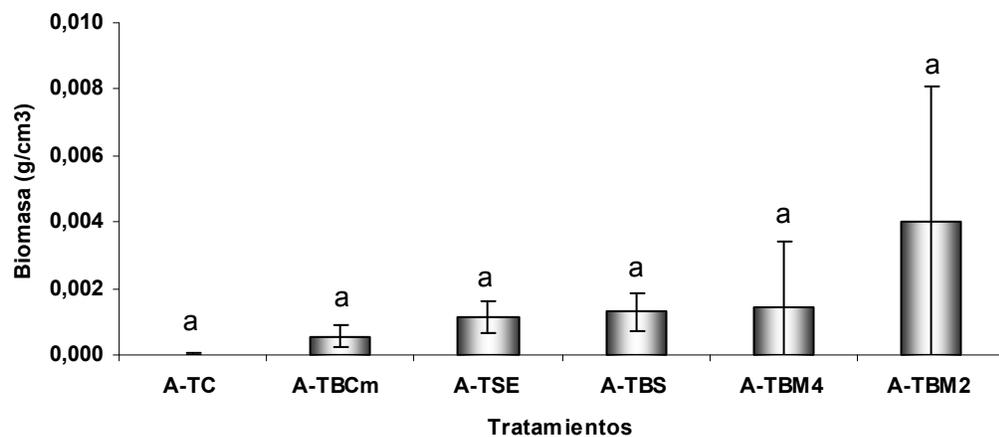
4.2.3.1 Biomasa de las raíces (peso seco)

Los resultados encontrados en esta investigación señalan que no existen diferencias significativas en la biomasa total de raíces presente en los distintos ensayos experimentales de la zona abierta del tranque El Cobre, mina El Soldado (figura 15), particularmente

debido a la alta variabilidad al interior de cada tratamiento. Sin embargo, se encontró una tendencia a mayor biomasa de raíces en los tratamientos con aplicación de biosólidos en mezcla en una dosis de 200 Mg ha⁻¹.

Al igual que lo explicado en el sector forestado, los resultados encontrados en el sector abierto también son producto de la alta heterogeneidad existente en una investigación de terreno, pues los ensayos experimentales están expuestos a diversos factores no controlados tales como variaciones microambientales y microtopográficas (variabilidad espacial), como así también la variabilidad interanual. Hay que mencionar que, el año 2007 fue particularmente frío y poco lluvioso, por lo que el desarrollo vegetal fue en general bajo.

Figura 15.- Biomasa de raíces (peso seco) presente en los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. Se indica el promedio y la desviación estándar. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera; TSE, tratamiento consuelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

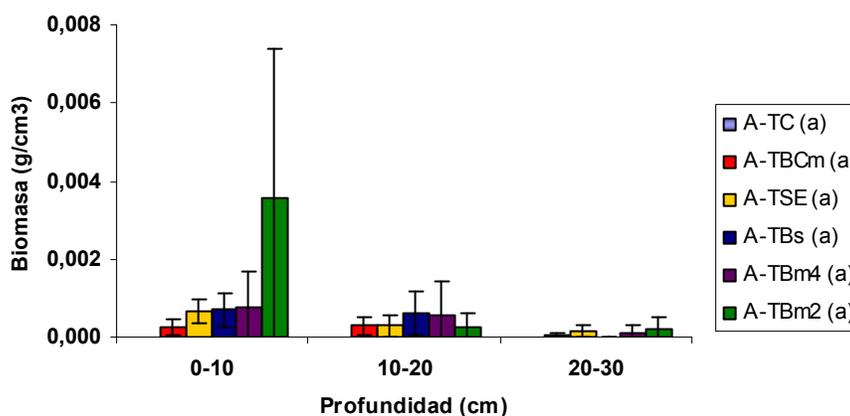


4.2.3.2 Distribución de las raíces

A pesar de que los análisis indicaron que la biomasa de raíces disminuyó con la profundidad, debido a que los tratamientos con acondicionadores afectaron principalmente las capas superficiales del relave (0-10cm), los resultados de esta investigación arrojan que no existen diferencias significativas en la distribución de raíces para los distintos

tratamientos experimentales de la zona abierta del tranque en estudio (figura 16). La alta variabilidad dentro de cada tratamiento afectó en forma importante los resultados de los análisis estadísticos. Sin embargo, se detectó una tendencia hacia la acumulación de mayor biomasa de raíces en la zona superficial (0-10 cm), donde se aplicaron las enmiendas orgánicas, particularmente en el tratamiento A-TBm2.

Figura 16.- Distribución espacial de la biomasa de raíces (peso seco) según profundidad, para los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. Se indica el promedio y la desviación estándar. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla; TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera; TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.



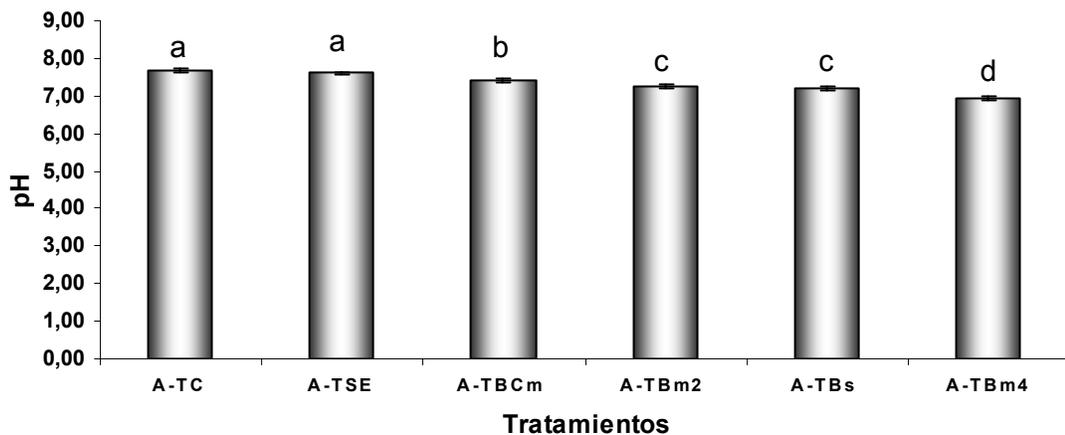
4.2.4 Características químicas del agua de poro

4.2.4.1 pH

Los resultados de pH y sus desviaciones estándar en la solución de agua de poro, de los distintos tratamientos experimentales de la zona abierta se indican en la figura 17. Los valores de pH encontrados en aquellos tratamientos que no recibieron aplicación de biosólidos tendieron a ser moderadamente alcalinos; en cambio, la mayoría de los tratamientos que recibieron alguna dosis de biosólidos, están cercanos a la neutralidad (Etchevers, 1980), por ende presentan mejores condiciones para el establecimiento de la

vegetación. Estos resultados se deben probablemente por el efecto amortiguador de la materia orgánica así como también al probable aporte de ácidos orgánicos que permiten una neutralización de la basicidad inicial al aportar iones hidrógeno al medio (Fuentes, 2008)⁸.

Figura 17.- pH del agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. Se indica el promedio y la desviación estándar. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla, TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera, TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.



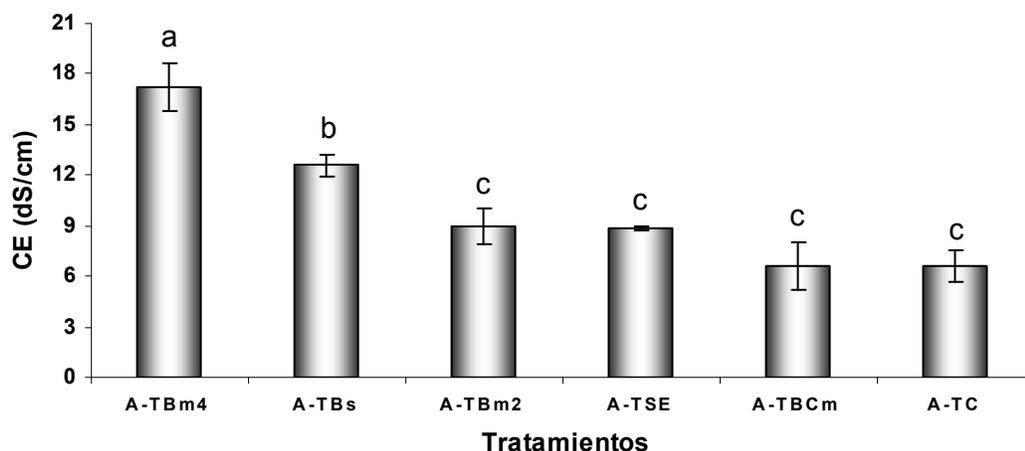
4.2.4.1 Conductividad eléctrica

Al observar los resultados medidos de la conductividad eléctrica (CE) y sus desviaciones estándar (figura 18), para los tratamientos experimentales, de la zona abierta del tranque de relaves en estudio, es posible observar que a mayor dosis de aplicación de biosólidos mayor es la CE. Estos resultados son concordantes con los obtenidos por Santibáñez (2006). Además, se puede mencionar que los tratamientos control, con incorporación de biosólidos en mezcla con astillas de madera (67 Mg ha^{-1}), más una capa superficial de suelo de escarpe (A-TSE) (ambos ligeramente salinos) y el tratamiento con incorporación de biosólidos más astillas de madera en el sustrato de relaves (200 Mg ha^{-1}) (A-TBm) y con incorporación de

⁸ Dr. Juan Pablo Fuentes Espoz. Comunicación personal, 2008.

biosólidos en mezcla con el relave (200 Mg ha^{-1}) (A-TBm) (ambos moderadamente salinos) no presentan diferencias significativas entre ellos (ver cuadro 1, sobre clasificación de salinidad). A su vez, el tratamiento con aplicación de biosólidos en superficie (200 Mg ha^{-1}) (A-TBs) (moderadamente salino) y el tratamiento con incorporación de biosólidos en dosis de 400 Mg ha^{-1} (A-TBm2) (fuertemente salino), presentan diferencias significativas entre ambos y con el resto de los tratamientos, además de mencionar que este último genera para la vegetación condiciones no adecuadas para el establecimiento de algunas especies (Santibáñez, 2005). Los biosólidos, al ser aplicado en dosis mayores a 200 Mg ha^{-1} , podrían desfavorecer temporalmente el desarrollo de la vegetación, ya que incrementa la conductividad eléctrica debido a la alta cantidad de sales solubles que contiene (Alcañiz *et al.*, 1998).

Figura 18.- Conductividad eléctrica (CE) del agua de poro para los sustratos de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. Se indica el promedio y la desviación estándar. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla, TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera, TSE, tratamiento con suelo de escarpe. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

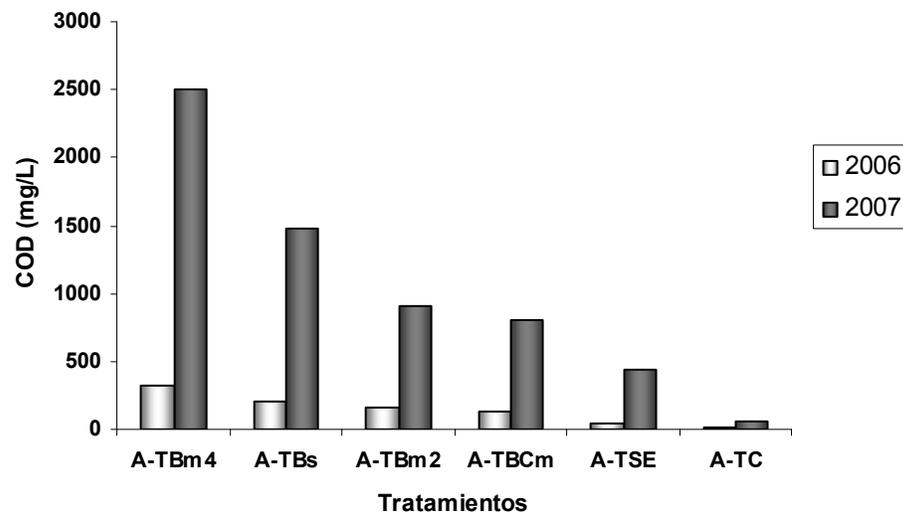


4.2.4.3 Carbono orgánico disuelto (COD)

El COD corresponde a compuestos orgánicos de bajo peso molecular, los cuales se producen durante el proceso de la descomposición de la MO (Santibáñez, 2006). Al observar los resultados encontrados en el COD (figura 19), es posible apreciar que los

tratamientos que recibieron la aplicación de biosólidos tienden a presentar valores de COD más altos que aquellos en los que no hubo aplicación de la enmienda orgánica. También se muestra que la cantidad de COD es dosis – dependiente, pues a mayores dosis de biosólidos mayor es el COD encontrado, lo que concuerda con los resultados encontrados por Santibáñez (2006). Los resultados son semejantes a los encontrados por otros autores (Antoniadis 1998; Ginocchio, 2007⁹; Jardine *et al.*, 1992), en suelos acondicionados con biosólidos, en donde el COD aumenta generando una mayor biodisponibilidad de los metales en la solución del suelo. Es claramente visible que el COD en el agua de poro aumentó en todos los tratamientos después de un año, lo que coincide con algunas investigaciones que se están llevando a cabo por Ginocchio (2007)¹⁰.

Figura 19. Variación temporal del de Carbono orgánico disuelto (COD) contenido en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región., al cabo de un año expresado en mg/l. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla, TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera, TSE, tratamiento con suelo de escarpe.



⁹ Datos no publicados

¹⁰ Dra. Rosanna Ginocchio, CIMM, comunicación personal, 2007.

4.2.4.4. Cu y Zn

En el Cuadro 9, se muestran los contenidos totales de Cu y Zn presentes en el agua de poro de todos los tratamientos experimentales analizados, de la zona abierta del tranque en estudio. Estos resultados permiten inferir que los metales disueltos en el agua de poro están más concentrados en los tratamientos que fueron sometidos a aplicaciones de biosólidos en cualquier forma y dosis. Además, es posible apreciar que la dosificación de los biosólidos también influye (positivamente) en la cantidad de metales disueltos en el agua de poro. Según Santibáñez (2006) *“esto se debe probablemente al bajo grado de estabilidad de los biosólidos, y por ende a las altas tasas de mineralización de la materia orgánica de éstos, lo cual tiende a liberar a la solución los metales contenidos en los biosólidos. Sin embargo, de acuerdo a lo reportado en la literatura, se esperaría una disminución de las concentraciones solubles de metales una vez que se establezca la mineralización de las formas lábiles de carbono presentes en los biosólidos y una vez que esta materia orgánica estabilizada contribuya a aumentar los sitios de adsorción y complejación de metales”*. Cabe además señalar que los valores de Cu obtenidos para los tratamientos con dosis de biosólidos se observan muy superiores a valores normales (no superiores a $1,0 \text{ mg L}^{-1}$)¹¹. Los resultados encontrados para las concentraciones de Zn, son similares a los encontrados para las concentraciones de Cu; es decir, los metales disueltos en el agua de poro son más concentrados en los tratamientos que fueron sometidos a aplicaciones de biosólidos en cualquier forma y dosis, pero en este caso, todos son valores aceptables¹².

¹¹ Dra. Rosanna Ginocchio, CIMM, comunicación personal, 2007.

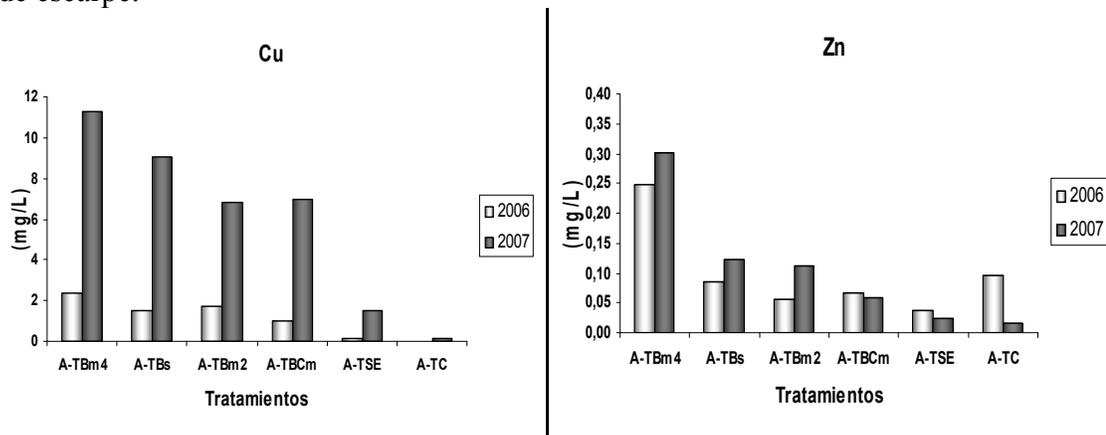
¹² Dra. Rosanna Ginocchio, CIMM, comunicación personal, 2007.

Cuadro 9.- Metales totales disueltos en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región. TC, control; TBm, biosólidos en mezcla, TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera, TSE, tratamiento con suelo de escarpe.

Tratamiento	Cu (mg L⁻¹)	Zn (mg L⁻¹)
A-TC	0,13	0,02
A-TBCm	6,98	0,06
A-TBm2	6,86	0,11
A-TBm4	11,31	0,30
A-TBs	9,07	0,12
A-TSE	1,50	0,02

Al analizar la evolución del contenido de Cu obtenido, en aquellos tratamientos que fueron sometidos a alguna dosis de biosólidos, se puede concluir que éste aumenta considerablemente en el tiempo (figura 20). Los resultados para el contenido de Zn, son diferentes a los obtenidos para el Cu total disuelto en el agua de poro, debido a que para aquellos tratamientos en que los biosólidos se mezclaron con astillas de madera o bien para el caso del tratamiento control, las concentraciones de Zn disminuyeron en el tiempo. Estos resultados son respaldados por la literatura (Santibáñez, 2006). A pesar de esto, en aquellos tratamientos en que fueron utilizados biosólidos sin mezclas, las concentraciones encontradas en esta oportunidad son levemente superiores a las de hace un año, esto se explica, ya que, en el caso de estos 3 tratamientos, aun no se estabiliza del todo la mineralización de las formas lábiles de carbono presentes en los biosólidos, pero en algún momento, estará estable y las concentraciones de Zn presentes en el agua de poro, debieran comenzar a disminuir, como en el resto de los tratamientos (figura 20).

Figura 20.- Variación temporal del Cu y Zn total disuelto en el agua de poro de los tratamientos experimentales establecidos en la zona abierta (A) del tranque El Cobre, mina El Soldado, V Región., al cabo de un año expresado en mg/l. TC, control; TBm, biosólido en mezcla, TBCm, biosólidos en mezcla con astillas de madera, TSE, tratamiento con suelo de escarpe.



5. CONCLUSIONES

Este estudio sobre la evaluación de la efectividad de los biosólidos para mejorar las características químicas, microbiológicas y de enraizamiento vegetal en un tranque de relaves de cobre de la Comuna de Nogales, Región de Valparaíso, sometido a un programa de rehabilitación por fitoestabilización, permite plantear las siguientes conclusiones.

- La aplicación de biosólidos y de suelo de escarpe ha producido una recuperación, al menos en el corto plazo, de la calidad biológica de los relaves, mostrando un incremento significativo de los parámetros que determinan la actividad de los microorganismos del suelo. Tanto el carbono de la biomasa microbiana como la respiración basal de los tratamientos con aplicación de acondicionadores han sido superiores al control. La actividad microbiana se ha mantenido activa durante el segundo año de evaluación, siendo muy destacable este comportamiento desde el punto de vista de la regeneración de estos sustratos. Sin embargo, es importante considerar que las respuestas microbianas fueron evaluadas sólo en el corto plazo y que deberían evaluarse en un plazo temporal mayor.
- La pre-existencia de árboles en la zona forestada no tuvo efectos negativos (alelopáticos o inhibitorios de la actividad de otros organismos) en la actividad y en la biomasa microbiana restituida por la aplicación de los distintos mejoradores. De esta forma, la aplicación de biosólidos y/o de suelo de escarpe en tranques de relaves forestados podría aportar en el mejoramiento de la sustentabilidad de los bosques plantados.
- En relación a la actividad y biomasa microbianas, las mejores respuestas obtenidas correspondieron a las dosis más altas de aplicación de biosólidos en mezcla y a la aplicación superficial de biosólidos. Sin embargo, para determinar la dosificación y la forma de aplicación más adecuadas para la rehabilitación de los relaves mineros a través de programas de fitoestabilización deben considerarse otros parámetros químicos

y físicos del sustrato generado, además de los efectos en el establecimiento y el crecimiento de la vegetación de interés.

- La actividad microbiana y la biomasa microbiana disminuyeron considerablemente en el segundo año, particularmente en los tratamientos con aplicación de biosólidos. Esta disminución se debería al agotamiento de las fuentes lábiles (de fácil degradación) de carbono, debidas a la alta tasa de mineralización inicial del carbono orgánico aportado por el biosólido, a la posible resistencia a la degradación de los complejos ligno-celulósicos remanentes y a la probable estabilización físico-química del material orgánico. Sin embargo, se esperaría que en los relaves tratados con acondicionadores orgánicos, dada la mayor producción de biomasa vegetal, la vegetación sea capaz de continuar suministrando compuestos orgánicos tanto a través de los exudados de sus raíces como de sus propios restos vegetales, de tal forma que se mantendría el nivel de biomasa microbiana, permitiendo que el sistema sea autosustentable en el largo plazo.
- La aplicación de biosólidos a los relaves mineros afecta, en una forma dosis-dependiente, algunos parámetros de la química de la solución intersticial, los que podrían resultar en efectos negativos sobre la vegetación si es que superan ciertos valores críticos. Específicamente, la aplicación en altas dosis de biosólidos aumenta la conductividad eléctrica (aumenta la salinidad del sustrato) y disminuye el pH del agua intersticial, parámetros que podrían afectar negativamente el establecimiento y crecimiento vegetal de no ser controlados. El suelo de escarpe no presenta estos efectos en la química del agua de poro, por lo que su dosificación no constituye un problema.
- La aplicación de biosólidos aumenta el contenido de carbono orgánico disuelto (COD) en el agua de poro y el contenido de cobre total disuelto, en una forma dosis-dependiente, lo que podría imponer problemas de toxicidad por cobre para las plantas o aumentar la acumulación de este metal en los tejidos vegetales.
- El crecimiento de las raíces fue adecuado para todos los mejoradores y dosis usadas, pero fue máximo con aplicación en mezcla de biosólidos a una dosis de 200 Mg ha^{-1} .

Sin embargo, éste se concentra en las capas del sustrato donde las características microbiológicas, nutricionales y químicas son, al parecer, más adecuadas. Específicamente, la zona superficial mejorada es la que concentra la mayor biomasa radicular. De esta forma, sería adecuado aumentar la profundidad de incorporación de los biosólidos o la profundidad de la capa superficial de suelo de escarpe aplicada, de forma de asegurar sistemas radicales más profundos, que aseguren el mejor anclaje de la vegetación.

- Al considerar en forma integrada las respuestas microbiológicas, del crecimiento de raíces y de variaciones en la química del agua de poro para la aplicación de biosólidos al relave en estudio, se sugiere usar una dosis no mayor a los 200 Mg ha⁻¹ y mezclados con astillas de madera, para asegurar una fertilidad adecuada del sustrato, una actividad microbiana adecuada y de largo plazo y evitar problemas de biodisponibilidad de cobre que pudieran imponer problemas de fitotoxicidad y/o de acumulación inadecuada de cobre en los tejidos vegetales.

6. BIBLIOGRAFÍA

ABAWI, G. y THURSTON, H. 1994. Efecto de las coberturas y enmiendas orgánicas al suelo y de los cultivos de cobertura sobre los patógenos del suelo y las enfermedades radicales: Una revisión. Tapado: Los Sistemas de Siembra con Cobertura. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica, Y Cornell International Institute for Food, Agriculture and Development , Ithaca, New York. pp. 97 - 108.

AGUAS ANDINAS. 2001. Proyecto: Uso de lodos provenientes de las aguas de tratamiento como fertilizantes agrícolas. Santiago: INIA/AGUAS ANDINAS.

AGUAS ANDINAS. 2004. Proyecto Aguas Andinas – SAG. Valorización de lodos provenientes de la planta de tratamiento de aguas servidas el trebal, como mejorador de suelos degradados. Informe final corregido temporada 3 predio 5. Departamento de Recursos Naturales Renovables. Santiago, Chile.

AGUAS ANDINAS. 2006. Declaración de Impacto Ambiental (DIA). Optimización y Mejoramientos en la Gestión de la PTAS El Trebal. Región Metropolitana. En Calificación. Comuna Padre Hurtado. Titular: Aguas Andinas S.A.

ALARCÓN, V. 1998. Concepto de pH e importancia en fertirrigación. Revista de frutas, hortalizas, flores, plantas ornamentales y de viveros (132):46-49.

ALCAÑIZ, J.; ORTIZ, O.; COMELLAS, L.; PUJOLÁ, M. y SERRA, E. 1998. Utilización de lodos de depuración en la rehabilitación de suelos de canteras, Ingeopres, Barcelona, España (59): 28-34.

ALLOWAY, B. 1990. Heavy metals in soils. John Wiley and Sons, Inc. New Cork, (ISBN (0470215984)).

AMBUS, P. y ROBERTSON, G. 1998. Automated near-continuous measurement of carbon dioxide and nitrous oxide fluxes from soil. *Soil Science Society of America Journal* (62):394-400.

ANDÍA, M. y LAGOS, G. 2001. Costo de Cierre de Tranques de Relave en Chile. En: Borregaard, N. y Gana, C. (eds). *Hacia la integración de aspectos ambientales, económicos y comerciales en el sector minero*. Santiago. CIPMA-IDRC. pp. 117-129

ANDERSON J. 1982. Soil respiration. En: Page AL., Miller RH., Keeney DR. (eds). *Methods of Soil Analysis, part 2*. Am. Soc. Agron., Soil Sci. Am. Madison, Wisconsin. pp 831-871.

ANDERSON, T. y DOMSCH, K. 1989. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soil. *Soil Biol. Biochem.* (21): 471-479.

ANTONIADIS, V. 1998. Heavy metal availability and mobility in sewage sludge-treated soils. PhD Thesis. University of Reading. 255p.

AYALA, F. y VADILLO, L. 1999. *Manual de restauración de terrenos y evaluación de impactos ambientales en minería*. 4ª ed. Instituto Tecnológico Geominero de España, Madrid.

BAHAM, J., y SPOSITO, G. 1983. Chemistry of water-soluble, metal-complexing ligands extracted from an anaerobically digested sewage sludge. *J. Environ. Qual* (12):96-100.

BARBARICK, K.; DOXTADER, K.; RÉDENTE, E. y BROBST, R. 2004 Biosolids effects on microbial activity in shrubland and grassland soils. *Soil Science* 169(3):176-187.

BOWEN, H. 1979. *Environmental Chemistry of the Elements*. Academic Press, London. En: VYMAZAL, J. 1995. *Algae and Element Cycling in Wetlands*. Lewis Publishers, Florida, U.S.A. 689p.

BRADSHAW, A. D. 1988. The restoration of land. Studies in ecology. Mining Journal Books. Inglaterra.

CHENG, S. 2003. Effects of heavy metals on plants and resistance mechanisms. A state-of-the-art report with special reference to the literature published in Chinese journals. Environ Sci Pollut Res Int 10(4):256-264.

COMISION NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE (CONAMA). 1994. Perfil Ambiental de Chile. Alfabeta impresores. 569p.

COMISION NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE (CONAMA). 1999. Diagnóstico y propuesta de manejo de tranques de relave y depósitos de ripio en la IV Región. Informe final preparado por Ingenieros Geotécnico Ltda.

COMISIÓN NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE (CONAMA). 2000. Anteproyecto de reglamento para el manejo de lodos no peligrosos generados en plantas de tratamientos de aguas. Santiago, Chile. 24p

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.

DELPHIN, J. E. 1986. Evaluation du pouvoir minéralisateur de sols agricoles en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques. Agronomie 6(5): 453-458.

DEVIA S., J. 1992. Forestación de depósito en mina El Soldado. Empresa Devia Saavedra. Informe técnico.

DOMMERGUES Y. 1968. Dégagement tellurique de CO₂ . Mesure et signification. Annales de l'Institut Pasteur 4(115): 626-656.

EPSTEIN, J. 2003. Land application of sewerage sludge and biosolids. Colorado, United States of America, Lewis Publishers.

ETCHEVERS, J. 1980. Manual de referencia para métodos rutinarios de análisis de suelo. Universidad de Concepción. Escuela de Agronomía, Depto. de Suelos, Chillán. Boletín Técnico N°65, Chillán, Chile, 30p.

FERRERA, R. ; GARCÍA , R ; ROMERO, M. y TRINIDAD, A. 2000. Producción de papa y biomasa microbiana en suelo con abonos orgánicos y minerales. Revista Agrociencia. 34(3): 261-269.

FORNASERO, L.; MOLLO, J.; TENORIO, D. y TONIUTTI, M. 1999. Evaluacion de la biomasa microbiana en el proceso de recuperación de suelos. Revista FAVE 13 (2): 5-11

FRESQUEZ, P. y DENNIS, G. 1990. Composition and fungal groups associated with sewage shedge atended grassland soils. Journal Arid Soil Residual Rehabil, N° 4, pp. 19-32.

FRIONI, L. 1990. Ecología microbiana del suelo. Depto. de Publicaciones y Ediciones de la Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

GAMBRELL, R.; WIESEPAPPE, J.; PATRICK, W. y DUFF, M. 1991. Effects of pH, redox, and salinity on metal release from a contaminated sediments. Water, Air and Soil Pollution 57-58: 359-367.

GARCÍA, C. 2001. Nuevos usos para el reci-clado en el suelo de residuos urbanos: Biocontrol en agricultura sostenible: recuperación de suelos degradados. I Encuentro Internacional de Gestión de Residuos Orgánicos en el Ámbito Ru-ral Mediterráneo. Departamento de Conservación de Suelos y Agua y Ma-nejo de Residuos Orgánicos. Murcia-España. 7p.

GARCÍA, C. y HERNÁNDEZ, T., 1997. Biological and biochemical indicators in derelict soils subject to erosion. *Soil Biolog. Biochem.* (29): 171 – 177.

GARCÍA C.; HERNÁNDEZ T.; COSTA F.; CECCANI B. y MASCIANDARO G. 1993. The dehydrogenase activity of soils as an ecological marker in processes of perturbed system regeneration. In: XI International Symposium of Environmental Biogeochemistry. Gallardo, Ed. Salamanca, España.

GINOCCHIO y NARVÁEZ. 2002. Importancia de la forma química y de la matriz del sustrato en la toxicidad por cobre en *Noticastrum sericeum* (Less.) Less. ex Phil. *Revista Chilena de Historia Natural* 75 (3): 603-612.

GINOCCHIO, R.; RODRÍGUEZ, P.; BADILLA-OHLBAUM, R.; ALLEN, H. y LAGOS, G. 2002. Effect of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21(8): 117-125.

GINOCCHIO, R. 2004. Nueva tecnología: Fitoestabilización para cierre de faenas mineras. *Revista Sustentare. Minería Chilena* (21): 1-4.

GINOCCHIO, R. 2004a. Solución vegetal. La fitorremediación puede ser muy útil para las faenas mineras en Chile, ya que permite remover o controlar contaminantes y, en algunos casos, recuperar metales. *Revista Induambiente* (67): 30-32.

GINOCCHIO, R. 2005. tecnología de fitoestabilización en Chile: un aporte al cierre y abandono de depósitos de relaves mineros. *Revista Punto minero. Ministerio de minería de Chile.* (7):11.

GINOCCHIO, R.; SÁNCHEZ, P.; DE LA FUENTE, L.; CAMUS, I.; BUSTAMANTE, E.; SILVA, Y.; URRESTARAZU, P.; TORRES, J. y RODRÍGUEZ, P. 2006. Agricultural Soils Spiked with Copper Mine Wastes and Copper Concentrate: Implications for Copper

Bioavailability and Bioaccumulation. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25:712-718.

GINOCCHIO, R. 2007. Fitoestabilización de relaves mineros: metales atrapados en una raíz. *Revista Ecoamerica. Minería y Medio Ambiente* (67): 24-29.

GINOCCHIO, R. y LEÓN-LOBOS. 2008. Guía metodológica para la fitoestabilización de depósitos de relaves en la Región de Coquimbo. Centro de Investigación Minera y Metalúrgica e Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile. 78p.

GIULIVO, C. y PITACCO, A. 1997. Studying the root system of grapevine. *Acta Hort.* (427):63-66.

GONZÁLEZ, S. 1994. Impacto ambiental de los metales pesados en Chile. VI Simposio sobre contaminación ambiental, 19 y 20 de abril de 1994. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). 261p.

GREGORICH, E.; WEN, G.; VORONEY, R. y KACHANOSKI, R. 1990. Calibration of a rapid direct chloroform extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* (22):1009-1011.

GRISSI, B. 1992. Biomassa microbiana do solo: métodos de determinação e resultados recentes. En: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 2., 1992. Anais São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia. pp.11-12.

GUISQUIANI, P.; CONCEZZI, L.; BUSINELLI, M. y MACCHIONI, A. 1998. Fate of pig sludge liquid fraction in calcareous soil: Agricultural and environmental implications. *Journal of Environmental Quality* (27): 364-371.

GUTIÉRREZ, J. y HOFFMANN, A. 1991. Reclamation of a copper tailing in Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*. (64): 77-83.

HAERING, K.; DANIELS, W. y FREAGLY, S. 2000. Reclaiming mined lands with biosolids, manures, and papermill sludges. En: R. Barnhise, W.L. Daniels, and R. Darmody (eds). Reclamation of Drastically Lands. American Society of Agronomy. Madison, WI.

HALL, J. 2003. Ecological and economical balance for sludge management options. Design and Operational Issues related to the co disposal of sludges and biosolids in Class I Landfills. Civil and Environmental Engineering Department. University of Central Florida.

JARDINE, P.; DUNNIVANT, F.; SELIM, H. y MCCARTHY, J. 1992. Comparison of models for describing the transport of dissolved organic carbon in aquifer columns. Soil Science Society of America Journal (56): 393-401.

JEDIDI, N.; HASSEN, A.; VAN CLEEMPUT y O. M'HIRI, A. 2004. Microbial biomass in a soil attended with different types of organic Wastes. Waste Management and Research. 22(2): 93-99.

JENKINSON, D., 1987. Determination of microbial biomass carbon and nitrogen in soil. 260-282 pp. En: Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystem. WILSON, J. R. (ed). CAB. Wallingford, UK. pp. 368- 386.

JENKINSON, D. y LADD, J., 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. Soil Biochemistry. Eds. E. A. Paul and J. N. Ladd, New York. (5): 415 - 471.

JENKINSON, D. y POWLSON, D. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil V-A method for measuring soil biomass. Soil Biology and Biochemistry (8):209-213.

JIMÉNEZ, C. y ARIAS, D. 2004. Distribución de la biomasa y densidad de raíces finas en una gradiente sucesional de bosques en la Zona Norte de Costa Rica. 23p.

JIMENEZ, L.; LARREAL, M. y NOGUERA, N. 2004. Cambios en la productividad de un Ultisol degradado mediante la aplicación de estiércol bovino. Rev. Fac. Agron.(LUZ) 21(3)244-256.

JÜNEMANN, O. 1969. Dinámica de la mineralización e inmovilización potenciales del nitrógeno y del carbono en suelos aluviales del valle central. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Santiago, Universidad Católica de Chile, Facultad de Ciencias de agronomía. 45p.

KABATA-PENDIAS, A. y PENDIAS, H. 2000. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, An Arbor, Michigan. 432p.

KARLEN, D.; EASH, N. y UNGER, P. 1997. Soil and crop management effects on soil quality indicators. American Journal of Alternative Agriculture. (7):48-55.

KLUTE, A. 1986. Methods of soil analysis. Physical and mineralogical methods. American Society of Agronomy, Madison, Winsconsin. USA. V1. 1159p.

LAGOS G. 2004. 20 años de cambio ambiental minero en la revista Ambiente y Desarrollo de CIPMA. Sección especial 20º aniversario. Aportes de ambiente y desarrollo de CIPMA al tema empresa y medio Ambiente. Revista Ambiente y Desarrollo. 20(2):57-66.

LEVI-MINZI, R.; RIFFALDI, R. y SAVIOZZI, A. 1990. Carbon mineralization in soil amended with different organic materials. Agriculture, Ecosystems and Environment. (31):325-335.

LÓPEZ C. y DÍAZ, M. 2001 Degree of trace metal pyritization in sediments from the Pacific coast of Baja California, Mexico. Revista Ciencias Marinas (27): 289-309.

MOLINA, E. 2000. Manual de suelos y nutrición de pejobaye para palmito. San José, Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. 42p.

MORALES, A. 1997. Apuntes metodológicos para el estudio de raíces en plantaciones forestales y bosques naturales. En: Simposio Internacional - Posibilidades del Manejo Forestal Sostenible en América Tropical. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia. CATIE. 11p.

ORTIZ, O. y ALCANIZ, J. 1998. Activité biologique des sols traités avec des boues de station d'épuration. 16 World Congreso of Soil Science. Actes / proceedings [CD- ROM], Montpellier, France.

PEPPAS, A.; KOMNITSAS, K. y HALIKIA, I. 2000. Use of organic covers for acid mine drainage control. Minerals Engineering (13): 563-574.

PORTA, J.; LOPEZ, M. y ROQUERO, C. 1999. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Mundi-Prensa. Madrid. 12000p.

POWLSON, D.; BROOKES, P. y CHRISTENSEN, B. 1987. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. Soil Biology and Biochemistry (19):159-164.

RIBET, I.; PTACEK, C.; BLOWES, D. y JAMBOR, J. 1995. The potential for metal release by reductive dissolution of weathered mine tailings. Journal of Contaminat Hydrology. (17): 239-273.

RODRIGUEZ, M.; DE LA MAZA, C. y BOWN, H. 2001. Presentación general del proyecto FONDEF D98I1036 "Identificación y desarrollo de especies vegetales susceptibles de ser usadas en proyectos de recuperación ambiental, con énfasis en recuperación ecológica". En: Experiencias internacionales en la rehabilitación de espacios degradados. Proyecto FONDEF D98I1036. Publicaciones misceláneas forestales (3).

SAG. 2004. Informe final "Valorización de biosólidos provenientes de la planta de tratamiento de aguas servidas El Trebal, como mejorador de suelos degradados". Servicio

Agrícola y Ganadero (SAG), Departamento de Protección de Recursos Naturales Renovables (DEPROREN).

SANTIBÁÑEZ, C. 2005. Determinación del pH y conductividad eléctrica del suelo. Guía docente, Modulo: Propiedades físicas, químicas y biológicas de los suelos. Facultad de Ciencias físicas y Matemáticas, Universidad de Chile. 9p.

SANTIBÁÑEZ, C. 2006. Uso de biosólidos de plantas de tratamiento de aguas servidas para la fitoestabilización de tranques de relaves. Tesis de Doctorado en Cs. Silvoagropecuarias y Veterinarias. Universidad de Chile, Fac. de Cs. Agr. Y For. Santiago. 102p.

SANTIBÁÑEZ, C.; VARNERO, M. y GINOCCHIO, R. 2006. Mineralización de carbono y nitrógeno en relaves mineros acondicionados con biosólidos. En Gallardo J.F. (ed). Medio ambiente en Iberoamerica. Visión desde la física y la química en los árboles del siglo XXI. Tomo III. pp. 337-343.

SERNAGEOMIN. 1989. Levantamiento catastral de los tranques de relave en Chile, Servicio Nacional de Geología y Minería, Santiago, Chile.

SMITH, J.; HALVORSON, J. y BOLTON, H. 1995. Determination and use of a coorrected control factor in the chloroform fumigation method of estimating soil microbial biomass. Biol. Fertil. Soils (19):287-291.

USEPA. 1983. Methods for chemical analysis of water and wastes. EPA 600/4-79-020, Washington D.C.

VAN DER LELIE, D.; SCHWITZGUEBEL, J.; GLASS, D.; VANGRONSVELD, J. y BAKER, A. 2001. Assessing phytoremediation's progress in the United States and Europe. En: Environmental science and technology (35): 446-452.

VARNERO, M. 1980. Mineralización in Vitro del nitrógeno orgánico en un suelo granítico. *Investigación agrícola* 6(2): 55-59.

VARNERO, M. 1994. El suelo como sistema biológico. En: *Suelos una visión actualizada del recurso*. Universidad de Chile, facultad de Cs. Agrarias y Forestales, Dpto. de Ingeniería y Suelos. Publicaciones misceláneas agrícolas N°38. Santiago, Chile. 345p.

VARNERO, M.; SANTIBAÑEZ, F. y ESPINOZA, M. 1987. Efecto de la humedad y la temperatura en la descomposición de la materia orgánica del suelo en condiciones de laboratorio. *Agricultura Técnico* 47(42): 97-100

VEGA, J. 2001. *Química del medio ambiente y de los recursos naturales*. Ediciones Universidad Católica de Chile. 405p.

VEGA, A.; BOVI, A.; GODOY, J. y BERTON, S. 2005. Lodo de esgoto e sistema radicular da pupunheira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* (29): 59–268.

VERDUGO, C.; SANTIBAÑEZ, C.; SÁNCHEZ, P.; GOURDON, D.; URRESTARAZU, P.; BUSTAMANTE, E.; SILVA, Y. y GINOCCHIO, R. 2005. Eficacia de los biosólidos sanitarios y las ecto-micorrizas para la fitoestabilización de depósitos de relaves mineros. VII Congreso SETAC – L.A.; Santiago, 16 al 20 de Octubre de 2005.

VICK, S.; VILLACHICA, C.; MOGROVEJO, J. y CALZADO, L. 1995. *Guía Ambiental para el Manejo de Relaves Mineros*. Ministerio de Energía y Minas, Lima, Perú. 73p.

VULKAN, R.; ZHAO, F.; BARBOSA-JEFFERSON, V.; PRESTON, S.; PATON, G.; TIPPING, E. y McGRATH, S. 2000. Copper speciation and impacts on bacterial biosensors in the pore water of copper-contaminated soils. *Environ Sci Technol* (34):5115–5121.

YOUNG, X.; BALIGAR, V.; MARTENS, D. y CLARK, R. 1995. Influx transport and accumulation of cadmium in plant species grown at different Cd²⁺ activities. *Journal of*

Environmental Science and Health Part B-Pesticides, Food Contamination and Agricultural Wastes (30): 569-583.

ZHOU, L. y WONG, J. 2001. Effect and dissolved organic matter from sludge and sludge compost on soil copper sorption. Journal of Environmental Quality (30): 878-883.

7. APÉNDICE

7.1 Abreviaciones y símbolos

A: Abierto.

BM_C: Carbono de la biomasa microbiana.

BM: Biomasa microbiana.

C: Carbono.

C_o: Carbono potencialmente mineralizable

CO₂: Dióxido de carbono.

C-CO₂: Carbono emitido como dióxido de carbono.

CE: Conductividad eléctrica.

COD: Carbono orgánico disuelto.

dS: DeciSiemens.

F: Forestado.

K_c: fracción de biomasa microbiana carbonada mineralizada bajo condiciones de ensayo.

K : Fracción de C mineralizado por día o tasa de mineralización.

MO: Materia orgánica.

TB_m: tratamiento biosólidos en mezcla.

TB_{Cm}: Tratamiento biosólidos en mezcla con astillas de madera.

TB_{m2}: Tratamiento biosólidos en mezcla de 200 Mg ha⁻¹.

TB_{m4}: Tratamiento biosólidos en mezcla de 400 Mg ha⁻¹.

TB_s: Tratamiento biosólidos en superficie.

TC: Tratamiento control.

TSE: tratamiento biosólidos con suelo de escarpe.

U.S. EPA: Agencia de protección ambiental de EE.UU.