

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE AGRONOMÍA

MEMORIA DE TÍTULO

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE DIFERENTES ENMIENDAS EN LA
REHABILITACIÓN DE SUELOS ÁCIDOS Y CONTAMINADOS CON METALES
Y METALOIDES EN EL VALLE DEL PUCHUNCAVÍ, REGIÓN DE
VALPARAÍSO.**

VALESKA ELIANA CÁRCAMO AZÓCAR

Santiago, Chile

2010

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE AGRONOMÍA

MEMORIA DE TÍTULO

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE DIFERENTES ENMIENDAS EN LA REHABILITACIÓN DE SUELOS ÁCIDOS Y CONTAMINADOS CON METALES Y METALOIDES EN EL VALLE DEL PUCHUNCAVÍ, REGIÓN DE VALPARAÍSO.

EVALUATION OF THE EFFICACY OF SOME AMENDMENTS IN THE REHABILITATION OF ACIDIC SOILS CONTAMINATED WITH METALS AND METALLOIDS AT THE PUCHUNCAVI VALLEY, VALPARAISO REGION.

VALESKA ELIANA CÁRCAMO AZÓCAR

Santiago, Chile

2010

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE AGRONOMÍA

MEMORIA DE TÍTULO

**EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE DIFERENTES ENMIENDAS EN LA
REHABILITACIÓN DE SUELOS ÁCIDOS Y CONTAMINADOS CON METALES Y
METALOIDES EN EL VALLE DEL PUCHUNCAVÍ, REGIÓN DE VALPARAÍSO.**

Memoria para optar al Título Profesional de
Ingeniera en Recursos Naturales Renovables

VALESKA ELIANA CÁRCAMO AZÓCAR

| Profesores Guías | Calificaciones |
|--|-----------------------|
| Sra. Rosanna Ginocchio Licenciada en Ciencias Biológicas, Ph.D. | 7,0 |
| Sr. Luis Morales Profesor de Ciencias Naturales y Física, Ph.D. | 7,0 |
| Profesores Evaluadores | |
| Sr. Gerardo Soto Ingeniero Forestal, M.Sc., Ph.D. | 7,0 |
| Sr. Andrés de la Fuente Ingeniero Agrónomo. | 7,0 |
| Colaborador | |
| Sr. Alexander Neaman Licenciado en Ciencias del Suelo, M.Sc., Ph.D. | |

Santiago, Chile

2010

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todos aquellos que me brindaron su apoyo e hicieron posible la realización de este estudio:

A mi pequeño Tomás por ser mi empuje en todo este periodo y por entregarme alegrías que nunca antes nadie me dio.

A Cristián por su apoyo incondicional, comprensión, su amor y compañía, sin la cual no habría logrado llegar a concretar esta memoria.

De manera especial, doy las gracias a mi familia, ya que sin ellos esta memoria no se habría concretado; a mi madre, por todo el tiempo que me dedicó y por su enorme apoyo durante la gestación de este estudio; a mi padre, por sus consejos y enseñanzas; a mis hermanos Daniela, Pedro y César por entregarme felicidad y cariño.

A la Profesora Rosanna Ginocchio por siempre estar dispuesta a aclarar mis dudas, por su inmensa paciencia, por su apoyo, confianza y preocupación; para mi es un honor haber realizado este trabajo de investigación bajo su dirección y le estaré siempre muy agradecida por haber dedicado su valioso tiempo en ello.

Al Profesor Alexander Neaman por su colaboración material e intelectual al desarrollo de esta memoria, gracias a su apoyo a través del proyecto FONDECYT 1085005.

A Luz María de la Fuente por las tantas enseñanzas que me brindó, por ayudarme en todo el proceso experimental y por ser una gran amiga y compañera de laboratorio.

A la Sra. Elena Bustamante por ayudarme en todos los análisis químicos y físicos de mis muestras y por su gran disposición a satisfacer mis dudas.

A la Sra. Paola Arata de Aguas Andinas, al Sr. Eduardo Barbieri de la Sociedad Contractual Minera Aceituno y al Sr. Luis Cerda de Andayem Ltda., por aportar en forma gratuita los acondicionadores de suelo usados en este estudio.

A mis compañeros y amigos de carrera, por toda la ayuda brindada, por encontrarse siempre presentes y por su lealtad.

ÍNDICE

Tabla de Contenidos

| | Página |
|---|-----------|
| RESUMEN | 5 |
| ABSTRACT | 7 |
| 1 INTRODUCCIÓN | 9 |
| 1.1 Hipótesis | 12 |
| 1.2 Objetivo general | 12 |
| 1.3 Objetivos específicos | 12 |
| 2 ANTECEDENTES | 13 |
| 2.1 El Suelo | 13 |
| 2.1.1 Contaminación de suelos | 13 |
| 2.2 Zona de estudio | 14 |
| 2.2.1 Características fisiográficas del Valle de Puchuncaví influyentes en la contaminación..... | 14 |
| 2.2.2 Evidencias de la contaminación..... | 15 |
| 3 MATERIALES Y MÉTODOS | 18 |
| 3.1 Suelo de estudio | 18 |
| 3.2 Acondicionadores de suelo | 20 |
| 3.3 Diseño Experimental | 22 |
| 3.3.1 Preparación de los sustratos experimentales | 22 |
| 3.3.2 Primera etapa: cinética inicial del suelo | 23 |
| 3.3.3 Segunda etapa: cultivo con <i>Lolium perenne</i> L..... | 24 |
| 3.3.4 Caracterización de los sustratos experimentales, agua de poro de sustratos y tejidos vegetales..... | 24 |
| 3.3.4.1 Sustratos experimentales..... | 24 |
| 3.3.4.2 Agua de poro de los sustratos experimentales | 25 |
| 3.3.4.3 Tejidos vegetales | 25 |
| 3.3.5 Análisis estadísticos..... | 26 |
| 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 27 |
| 4.1 Efecto de las enmiendas sobre el pH y la solubilidad de los metales y metaloides en los suelos contaminados | 27 |
| 4.1.1 Efecto inicial de las enmiendas sobre las características físicas y químicas del suelo de estudio | 27 |
| 4.1.2 Cinética de reacción de los acondicionadores sobre el pH y la solubilidad de los metales y metaloides del suelo de estudio..... | 29 |
| 4.2 Efecto de los acondicionadores en el crecimiento y la acumulación de metales y As en <i>Lolium perenne</i> L. (<i>Ballica perenne</i>) | 39 |

| | | |
|------|------------------------|----|
| 4.3 | Discusión general..... | 48 |
| 5 | CONCLUSIONES..... | 54 |
| 6 | BIBLIOGRAFÍA..... | 55 |
| 7 | APÉNDICES..... | 63 |
| 7.1 | Apéndice I | 63 |
| 7.2 | Apéndice II..... | 65 |
| 7.3 | Apéndice III | 70 |
| 7.4 | Apéndice IV..... | 72 |
| 7.5 | Apéndice V | 77 |
| 7.6 | Apéndice VI..... | 78 |
| 7.7 | Apéndice VII..... | 79 |
| 7.8 | Apéndice VIII | 81 |
| 7.9 | Apéndice IX..... | 82 |
| 7.10 | Apéndice X..... | 83 |
| 7.11 | Apéndice XI..... | 84 |

Índice de cuadros

| | |
|--|----|
| Cuadro 1: Características fisicoquímicas generales del suelo de estudio (altamente contaminado) y del sitio de referencia, Valle del Puchuncaví, Región de Valparaíso..... | 20 |
| Cuadro 2: Características generales de los biosólidos salidos de la centrífuga, generados por la Planta de Tratamiento de aguas servidas domiciliarias El Trebal, Región Metropolitana. | 21 |
| Cuadro 3: Dosificación de los tratamientos experimentales. Los porcentajes son en peso y en base seca. | 23 |
| Cuadro 4: Características fisicoquímicas generales de los sustratos experimentales al tiempo inicial (T0). Código de los tratamientos según el Cuadro 1..... | 25 |
| Cuadro 5: Contenido total de metales y metaloides en los sustratos experimentales al tiempo inicial (T0). Código de los tratamientos según el Cuadro 1..... | 29 |

| | |
|--|----|
| Cuadro 6: Evolución del pH medido en el agua de poro de los sustratos experimentales. Se muestra el promedio (Prom) y la desviación estándar (DE). Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas entre tratamientos por semana indican diferencias significativas..... | 32 |
| Cuadro 7: Evolución del contenido total disuelto de metales y metaloides en el agua de poro de los sustratos experimentales. Código de los tratamientos según el Cuadro 1..... | 33 |
| Cuadro 8: Evolución de la actividad de Cu (pCu^{2+}) en el agua de poro de los sustratos experimentales. Se muestra el promedio (Prom) y la desviación estándar (DE). Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas..... | 34 |
| Cuadro 9: Evolución de la conductividad eléctrica (CE) en el agua de poro de los sustratos experimentales. Se muestra el promedio (Prom) y la desviación estándar (DE). Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas..... | 44 |
| Cuadro 10: Acumulación de metales (Cu, Zn y Fe) y de As en los vástagos de <i>Lolium perenne</i> al final del experimento. Se muestra el promedio (Prom) y la desviación estándar (DE). Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas | 46 |

Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1: Fotografía aérea de la zona de estudio. La estrella indica la ubicación del sector Los Maitenes, en el Valle de Puchuncaví, desde donde se colectó suelo superficial (0-20 cm) para este estudio. En la esquina inferior derecha se muestra una imagen referencial de la ubicación del Valle de Puchuncaví en la Región de Valparaíso, Chile..... | 18 |
| Figura 2: Relación entre Carbono orgánico disuelto (COD) y pH en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente. | 35 |
| Figura 3a: Relación entre el pH y la actividad del Cu iónico o pCu^{2+} en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente. | 36 |
| Figura 3b: Relación entre el pH y el contenido de Cu total disuelto en el agua de poro de los | |

| | |
|---|----|
| sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente. | 36 |
| Figura 4a: Relación entre el COD y el contenido de Cu total disuelto en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente. | 37 |
| Figura 4b: Relación entre el COD y la actividad de Cu iónico o pCu^{2+} en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente. | 37 |
| Figura 5: Relación entre el COD y el Zn total disuelto en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente. | 38 |
| Figura 6: Relación entre el COD y As total disuelto en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente. | 38 |
| Figura 7: Vista general del ensayo experimental de cultivo de <i>Lolium perenne</i> , planta indicadora, en los distintos tratamientos experimentales de este estudio..... | 40 |
| Figura 8: Biomasa seca de los vástagos de las plantas de <i>Lolium perenne</i> crecidas en los distintos sustratos experimentales obtenida al final del experimento. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas..... | 41 |
| Figura 9: Productividad aérea obtenida en algunas macetas experimentales al final del experimento; arriba izquierda Control (-); arriba derecha, Control (+); abajo izquierda, tratamiento CoZ (el de mayor biomasa aérea seca); abajo derecha, tratamiento CoBc6ZZA (El de menor biomasa seca)..... | 42 |
| Figura 10: Cobertura radical de las plantas de <i>Lolium perenne</i> crecidas en los distintos sustratos experimentales obtenida al final del experimento. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas | 43 |
| Figura 11: Relación entre Carbono orgánico disuelto (COD) y Conductividad eléctrica (CE) en el agua de poro de los sustratos experimentales obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente. | 45 |

RESUMEN

Los ecosistemas de tipo mediterráneo semiárido del Valle de Puchuncaví, en la zona costera de Chile central, fueron expuestos desde 1964 a los gases y las partículas ricas en metales y metaloides provenientes del complejo industrial Ventanas. Después de 35 años de producción, las zonas inmediatas al complejo industrial se caracterizan por una baja densidad y diversidad de vegetación y por suelos que se encuentran muy erosionados, acidificados y contaminados con metales (Cobre, Zinc, Plomo, y Cadmio) y metaloides (Arsénico). Para reducir los riesgos ambientales del lugar, es necesaria su rehabilitación. Por ello, en este estudio, se evaluó la eficacia de la Zeolita, la Zeolita activada, los Biosólidos y la Conchuela, como enmiendas acondicionadoras de bajo costo y de disponibilidad nacional, para inmovilizar “in situ” los metales y metaloides contenidos en los suelos contaminados del Valle de Puchuncaví y reducir la fitotoxicidad de éstos. Para esto, suelos superficiales (0-20 cm) colectados en el sector Los Maitenes, ubicado a unos 2 km al noreste del Complejo Industrial Ventanas, fueron acondicionados con las enmiendas seleccionadas, tanto en forma aislada como en mezclas y en distintas dosis, usando los criterios sugeridos por la Environmental Protection Agency (EPA) Norteamericana. Los sustratos experimentales fueron mantenidos en condiciones controladas de laboratorio durante un mes, bajo riego controlado, para permitir la estabilización; durante este período se evaluó la evolución química de la solución suelo (agua de poro), para verificar los parámetros relevantes (i.e. pH, conductividad eléctrica, metales y arsénico total disuelto, cobre iónico). Posteriormente, los sustratos fueron sembrados con *Lolium perenne* L. (Ballica) y mantenidos durante 60 días bajo condiciones ambientales y de riego controladas. Al cabo de este período se evaluó la productividad de la Ballica y la acumulación de Cu, Zn, Fe y As en los tejidos aéreos de las plantas, además de la evolución química de la solución suelo (agua de poro). Los resultados mostraron que la Conchuela es una enmienda efectiva para neutralizar los suelos ácidos del Valle del Puchuncaví; esta enmienda resultó en una reducción significativa en el contenido total disuelto de metales y arsénico en el agua de poro del suelo y en los vástagos de Ballica, consiguiendo con ello una mayor productividad vegetal. La adición de Biosólidos a los suelos neutralizados aumentó aún más la productividad de la Ballica, manteniendo la eficacia neutralizante de la Conchuela y la disminución de los contenidos de metales y de arsénico en las aguas de poro. Sin embargo, la utilización de Zeolitas y/o altas dosis de Biosólidos en conjunto con conchuela resultó en un aumento excesivo del pH, ocasionando un aumento en el contenido total disuelto de As en el agua de poro y, por lo tanto, mayor movilidad de este metaloide en el suelo, reflejándose esto en el mayor contenido de este metaloide en los vástagos de la Ballica. Adicionalmente, el uso simultáneo de Biosólidos y Zeolita en suelos encalados con Conchuela resultó en salinización del suelo, lo que limitó el establecimiento y el desarrollo de la Ballica. La incorporación de Zeolita activada con Fe a los suelos con Conchuela fue efectiva en disminuir el contenido total disuelto de As en el agua de poro, en comparación a los suelos sin enmendar. En base a los resultados experimentales obtenidos se recomienda el uso de una mezcla de Conchuela y de Zeolita activada para la efectiva inmovilización ‘in

situ' de los metales y del arsénico contenidos en los suelos ácidos y contaminados del valle de Puchuncaví; con esta mezcla se obtienen los resultados más óptimos tanto en los niveles de pH alcanzados como en el contenido de metales y As totales disueltos en la solución del suelo y en los tejidos vegetales aéreos de la Ballica, logrando una adecuada productividad de esta.

Palabras clave: Rehabilitación de suelos contaminados, metales, biodisponibilidad, Biosólidos, Conchuela, Zeolita, Zeolita activada.

ABSTRACT

Semi-arid Mediterranean-type ecosystems of the Puchuncaví Valley in the coastal zone of central Chile were exposed to gases and particles rich in metals and metalloids from the Ventanas industrial complex since 1964. After 35 years of production, the areas surrounding the industrial complex show low density and diversity of vegetation and soils that are severely eroded, acidified and contaminated with metals (copper, zinc, lead, and cadmium) and metalloids (arsenic). In order to reduce environmental risks due to soil pollution, rehabilitation of the area is needed. In the present study, we evaluated the efficacy of Zeolite, activated Zeolite, Biosolids and Seashell grit as soil amendments for in situ immobilization of metals and metalloids, due to their low cost and local availability, and thus to reduce phytotoxicity of soils at the Puchuncaví valley. Polluted topsoil (0-20 cm) was collected at Los Maitenes, located about 2 km northeast of the Ventanas Industrial complex, and mixed with selected amendments, both alone and in mixtures and at different dosages, based on criteria suggested by the Environmental Protection Agency (EPA) of the United States. Experimental substrates were kept under controlled laboratory conditions for 30 days to allow equilibration; during this period, chemical evolution of the soil pore water was evaluated, to verify relevant parameters (i.e. pH, electric conductivity, total dissolved metals and arsenic and ionic copper). Afterwards, experimental substrates were sown with *Lolium perenne* L. (ryegrass) and cultivated under controlled laboratory conditions and irrigation for 60 days. At the end of this period of time, yield of ryegrass and Cu, Zn, Fe and As accumulation in aerial plant tissues were evaluated, besides the chemical evolution of the soil pore water. Results showed that Seashell grit is an effective amendment for neutralization of acid soils of the Puchuncaví valley; this amendment resulted in a significant reduction in total dissolved contents of metals and arsenic in soil pore water and in shoots of ryegrass, thus resulting in higher plant yields. Addition of low dosages of Biosolids to neutralized soils increases even more plant yields, assuring in situ immobilization of metals and arsenic in soils allowed by Seashell grit. On the other hand, the mixture of either Zeolite or high dosages of Biosolids with Seashell grit resulted in excessive increases in pH, thus increasing both contents of total dissolved As in soil pore water and in shoots of ryegrass. When Biosolids and Zeolite are combined and mixed with neutralized soils, soil salinization occurred, limiting the establishment and proper development of ryegrass. Addition of iron-activated Zeolite to neutralized soils was even more effective in decreasing content of total dissolved As in soil pore water, as compared to unamended soils. Results of the present study allow us to recommend the use of Seashell grit and activated Zeolite as effective amendments for in situ immobilization of metals and arsenic in acidic and polluted soils of the Puchuncaví valley; this mixture of amendments allows optimal results, both in terms of pH levels (neutralization) and content of total dissolved metals/As in the soil solution and aerial tissues of ryegrass, and plant yield..

Key words: Rehabilitation of contaminated soils, metals, bioavailability, biosolids, Seashell grit, Zeolite, Activated Zeolite.

1 INTRODUCCIÓN

Históricamente, las emisiones atmosféricas generadas por las industrias fundidoras de metales causaron importantes alteraciones en la vegetación y en los suelos de las zonas aledañas, particularmente por la falta de normas ambientales que regularan las emisiones de gases sulfurados y nitrogenados y de material particulado rico en metales y metaloides (Kozlov *et al.*, 1995; Ginocchio, 2000). Por la misma causa, los ecosistemas de tipo Mediterráneo semiárido del Valle de Puchuncaví en la zona costera de Chile central, fueron expuestos a los gases y las partículas ricas en metales y metaloides provenientes del complejo industrial Ventanas desde 1964 (Environmental Resources Management, 1993). Por ejemplo, González y Bergqvist (1986) informaron que en el Valle de Puchuncaví los contenidos de metales en el suelo se encontraban excedidos en la totalidad del área, siendo las cercanías al complejo industrial las zonas más afectadas. Ellos también observaron la existencia de una correlación importante entre los niveles totales de los metales contenidos en los suelos y la distancia a la zona industrial, lo que refleja un enriquecimiento neto de origen antrópico. Adicionalmente, González (1992) demuestra una relación positiva entre la acumulación de metales y la acidez del suelo; así, a medida que se incrementa la acumulación de metales en el suelo, su acidez aumenta, debido a la deposición ácida derivada del dióxido de azufre (SO₂) emitido a la atmósfera por el complejo Industrial Ventanas, del orden de 124.100 toneladas anuales (Lagos e Ibáñez, 1993). Después de 35 años de producción, sin restricción en las emisiones hasta la década de los noventa, las zonas inmediatas al complejo industrial se caracterizan ahora por una baja densidad y diversidad de vegetación y por suelos que se encuentran muy erosionados, acidificados y contaminados con metales (Cobre, Zinc, Plomo, y Cadmio) y metaloides (Arsénico; Alfaro, 1988).

Como consecuencia del establecimiento de la Ley General de Bases del Medio Ambiente y de sus reglamentos asociados, a comienzos de la década de los noventa la fundición Ventanas fue sometida a un Plan de Descontaminación Ambiental entre los años 1993 y 1998. En este contexto, la fundición incorporó una serie de tecnologías, tales como electro filtros en la chimenea y una planta de recuperación de ácido sulfúrico (Lagos e Ibáñez, 1993), con el fin de reducir las emisiones atmosféricas de SO₂ y de material particulado respirable (tamaño menor a 10 micrones o PM10), a los valores establecidos por la nueva normativa ambiental chilena. A pesar que las emisiones atmosféricas de contaminantes fueron efectivamente controladas, estudios de campo han demostrado que la acidificación de los suelos y sus contenidos elevados de metales y metaloides permanecen hasta hoy (González and Ite, 1992; Ginocchio *et al.*, 2004; Reaman *et al.*, 2009).

En la actualidad, es necesaria una rehabilitación a gran escala para detener y revertir la degradación de los suelos en torno al complejo industrial Ventanas y para reducir los riesgos ambientales que significan los metales y metaloides acumulados en las capas superficiales del suelo. Dentro de las técnicas de rehabilitación de suelos acidificados y

contaminados con metales/metaloideos está la inmovilización “in situ”, que puede ser definida como una reducción de la concentración de metales/metaloideos en la solución del suelo mediante la adición de una o varias enmiendas, dejándolo con su estructura intacta (Oste and Singh., 2001; U.S. EPA, 2007). De este modo, los metales/metaloideos no se extraen del suelo, sino que se inmovilizan en una forma menos soluble. La reducción de la solubilidad limita, a su vez, la disponibilidad y la toxicidad de los metales/metaloideos para las plantas y los organismos del suelo (biodisponibilidad; Adriano, 2001). Del mismo modo, la acidez del suelo puede ser tratada “in situ” mediante la aplicación de enmiendas que no transformen su estructura básica ni cambien sus características físicas (U.S. EPA 2007).

Es importante destacar que los efectos ambientales de los metales/metaloideos no están directamente relacionados con los contenidos totales presentes en los suelos, sino con la fracción biodisponible (Adriano, 2001). La biodisponibilidad resulta ser un concepto complejo y multifactorial, ya que se deben tener en cuenta las complejas interacciones entre los metales o los metaloideos y otros componentes del suelo. Parámetros fisicoquímicos del suelo, tales como la textura, el pH y el contenido de materia orgánica, interactúan para determinar los procesos de adsorción/desorción de los metales/metaloideos en los suelos, lo que afecta su disponibilidad ambiental para las plantas y otros organismos del suelo (Adriano, 2001). En el caso específico del Valle del Puchuncaví, la co-ocurrencia de metales y metaloideos, tales como Cobre y Arsénico, que se comportan de forma antagónica frente a ciertos parámetros del suelo, determina la necesidad de contar con protocolos más rigurosos sobre el tipo y la dosificación de los acondicionadores adecuados para lograr la estabilización efectiva “in situ”. Por ejemplo, en relación con el pH, se ha demostrado que el Cu y el Zn tienen mayor grado de solubilización a menores valores de pH en el suelo (mayor acidez) (Sauvé *et al.*, 1997), mientras que el As se comporta de manera opuesta, siendo éste más soluble a mayores valores de este parámetro (McBride, 1994).

Conjuntamente al problema de exceso de metales y metaloideos en los suelos del Valle de Puchuncaví, la acidificación de ellos es relevante y debe ser revertida, ya que los suelos ácidos son tóxicos para la mayoría de las plantas (Adriano, 2001). Adicionalmente, aumentan la solubilidad de algunos cationes metálicos, tal como se mencionó anteriormente, intensificando los problemas de toxicidad por metales para las plantas y la microbiota. Los suelos ácidos son normalmente neutralizados a través de la aplicación de materiales básicos, tal como la cal agrícola, que por su fuente de calcio soluble es utilizada como neutralizadora (U.S. EPA, 2007; Santibáñez *et al.*, 2009). Sin embargo, otros materiales básicos, como la conchuela, también serían beneficiosos y podrían estar altamente disponibles y a bajo costo.

Adicionalmente, los acondicionadores elegidos para la estabilización de los metales/metaloideos “in situ” pueden determinar efectos secundarios no deseados, por lo que es fundamental conocer sus características tanto físicas como químicas previamente a su aplicación. Por ejemplo, existe evidencia que demuestra que la incorporación de materia orgánica no estabilizada a suelos contaminados con metales, tal como los biosólidos, puede

resultar en una mayor solubilización de los metales/metaloides por un aumento en la cantidad de ligandos orgánicos solubles presentes en la solución suelo, dado por las sustancias húmicas de bajo peso molecular que se encuentran en ellos (Martínez y McBride, 1999). Sin embargo, los biosólidos que corresponden a un subproducto del tratamiento de las aguas servidas domiciliarias (Castro *et al.*, 2007), resultan ser una alternativa de enmienda de alta disponibilidad y de muy bajo costo, pues además de que se ha demostrado que otorgan beneficios claros en las características físicas y nutricionales del sustrato (Wallace y Terry, 1998; Wright *et al.*, 1998; Stofella y Kahn, 2001), se ha señalado también que puede ser un quelante de cationes metálicos, gracias a sus compuestos carbonados de alto peso molecular, logrando inmovilizar ciertos metales facilitando así la rehabilitación de los suelos contaminados (U.S. EPA, 2007; Santibáñez *et al.*, 2009). Es importante destacar que, en el caso específico de los biosólidos se podría estar adicionando una carga metálica extra al suelo, lo que también es necesario considerar (Nriagu y Pacyna, 1988; Acevedo, 2004; Cuevas *et. al.*, 2006).

Entre los materiales utilizados como enmiendas en suelos, con el fin de inmovilizar metales/metaloides, está la zeolita. Este aluminosilicato hidratado cristalino con estructuras tridimensionales se caracteriza por tener la habilidad de retener y liberar agua e intercambiar iones metálicos sin modificar su estructura atómica (Ming and Mumpton, 1989). Debido a ello, existe evidencia que demuestra su potencial para la descontaminación de metales desde medios edáficos y acuáticos (Moirou *et al.*, 2001; Reháková *et al.*, 2004; Leggo, 2006). Así mismo, al ser altamente hidrofílica, la zeolita facilita la absorción de nutrientes por las plantas, ya que éstos son tomados por las raíces al estar disueltos en agua (Reháková *et al.*, 2004). Cabe destacar que el uso de zeolita, aún cuando modifica favorablemente la capacidad de intercambio iónico de los suelos, no altera otras propiedades físicas de ellos (Leggo, 2006). Adicionalmente, la zeolita puede ser activada con hierro, incrementando la afinidad de ésta por algunos metales o metaloides de interés como el Arsénico; es así como se ha demostrado que la zeolita activada con hierro mejora notablemente la estabilización del arsénico a través de la creación de sitios activos específicos para inmovilizarlo (Onyango *et al.*, 2003).

En este estudio, se pretende evaluar la eficacia de algunas enmiendas como acondicionadores inorgánicos y orgánicos de bajo costo y de disponibilidad nacional, para lograr inmovilizar “in situ” los metales y metaloides contenidos en los suelos contaminados del Valle de Puchuncaví, de forma de aportar en la reducción de los riesgos ambientales asociados a ellos.

1.1 Hipótesis

La adición de zeolita, zeolita activada, conchuela, biosólidos o bien una mezcla de ellos, a los suelos acidificados y contaminados con metales/metaloides del Valle de Puchuncaví, disminuiría la solubilidad de estos elementos y las condiciones ácidas del sustrato, permitiendo su inmovilización “in situ” y eliminando los problemas de fitotoxicidad de estos suelos.

1.2 Objetivo general

El objetivo principal es realizar una evaluación “ex situ” de la eficacia de las distintas enmiendas seleccionadas (zeolita, zeolita activada, conchuela, biosólidos), para reducir la solubilidad y la fitotoxicidad de los metales y metaloides presentes en los suelos contaminados por actividades históricas del Complejo Industrial Ventanas en el Valle de Puchuncaví.

1.3 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de las enmiendas sobre el pH y la solubilidad de los metales y metaloides en los suelos contaminados, a través de experimentos de laboratorio (“ex situ”);
2. Evaluar el efecto de las enmiendas en el crecimiento y la acumulación de metales y metaloides en una especie vegetal tipo, a través de experimentos de laboratorio (“ex situ”).

2 ANTECEDENTES

2.1 El Suelo

El suelo es un medio complejo y heterogéneo conformado por sólidos orgánicos y minerales, además de componentes acuosos y gaseosos (Simposio Proyecto Ley de Protección de Suelo, 2000). El suelo se caracteriza por ser un sistema dinámico sometido, tanto a corto como a largo plazo, a las fluctuaciones de diferentes parámetros, entre ellos, el pH, la condición de humedad, las condiciones de óxido-reducción, los contenidos de materia orgánica, de minerales de arcilla y de óxidos de hierro, manganeso y aluminio (Luzio, 2000); todos éstos constituyen importantes factores que afectan, además, a la especiación y la biodisponibilidad de los diversos oligoelementos presentes en el suelo (Mench *et al.*, 1998).

2.1.1 Contaminación de suelos

La contaminación puede ser definida como la presencia en el ambiente de uno o más contaminantes o cualquier combinación de ellos que perjudique o resulte nocivo para uno o varios factores o componentes del medio ambiente. Siendo contaminante cualquier sustancia química, biológica o radiológica, que en cualquiera de sus estados físicos y formas, al incorporarse o encontrarse por encima de sus concentraciones normales en la atmósfera, agua, suelo, fauna o cualquier elemento del medio ambiente, altera y cambia su composición y condición natural. Los suelos se contaminan por la incorporación a los mismos de sustancias contaminantes que provienen mayoritariamente de actividades humanas, las que causan algún tipo de alteración de sus propiedades físicas, químicas y/o biológicas (Luzio, 2000).

Es importante considerar que los suelos poseen un umbral específico de estabilidad, es decir, una capacidad para asimilar las intervenciones sin entrar en procesos de deterioro, la que varía en función del tipo de suelo y de su entorno. Por lo tanto, una misma acción puede inducir efectos de diferente magnitud en función inversa de los umbrales de estabilidad de los suelos. Es así como la certificación de un proceso contaminante estará sujeta a las características propias de cada suelo en cuestión (González, 2005). Por lo anterior, los suelos presentan la particularidad de que sus propiedades asumen valores muy diversos aún dentro de una misma calidad, lo que inhabilita la identificación de magnitudes asociadas a calidad. Estos rangos de calidad pueden depender de diversos factores, entre los que podemos mencionar toxicidad inherente al contaminante, capacidad amortiguadora del suelo, uso del suelo, respuesta al estrés y capacidad de bioacumulación del suelo, entre otras (González, 2000).

Refiriéndonos específicamente a la contaminación del suelo por metales y/o metaloides, las concentraciones totales de ellos no son adecuadas para entender los procesos de biodisponibilidad y los ciclos de los elementos químicos (McBride, 1989). Esto se debe a que sólo la fracción biodisponible, o reactiva biológicamente, de estos elementos corresponde a las formas solubles e intercambiables, las que representan una fracción pequeña del total presente en un suelo (Shorrocks and Alloway, 1986). Esta fracción biodisponible se encuentra principalmente relacionada con las condiciones fisicoquímicas del suelo, tales como pH, porcentaje de materia orgánica y cantidad y tipo de arcillas, entre otros (Davies, 1992). Por ejemplo, existen valores de pH específicos bajo los cuales los metales u otros elementos químicos presentes en el suelo resultan solubles, lo que significa su movilidad o inmovilidad dentro del sustrato y, por ende, su disponibilidad o no disponibilidad para las plantas u otros organismos. Elementos como los cromatos o arseniatos son especialmente sensibles a este factor (Mench *et al.*, 1998).

Las plantas cultivadas en suelos contaminados absorben, en general, más oligoelementos y la concentración de éstos en los tejidos vegetales está a menudo directamente relacionada con su abundancia en los suelos, y especialmente en la solución intersticial o agua de poro (Kabata-Pendias y Pendias, 2000). Sin embargo, la absorción de metales por las plantas no sólo depende de la disponibilidad en el medio ambiente, sino también de la fisiología de la planta, el estado nutricional, la capacidad de regulación de los activos internos de concentración de metales, y la capacidad para afectar la raíz por las condiciones químicas del suelo (Dudka *et al.*, 1996; Römken *et al.*, 1999). Es importante mencionar también, como alude González (1992), la existencia de una relación positiva entre la acumulación de metales en los tejidos vegetales y la acidez del suelo, en el caso particular de los suelos contaminados por fundiciones de metales; así, a medida que se incrementa la acumulación de metales en el suelo, su acidez también aumenta debido a que las partículas ricas en metales, en la mayoría de los casos, son emitidas a la atmósfera en conjunto con gases compuestos principalmente por SO₂.

2.2 Zona de estudio

2.2.1 Características fisiográficas del Valle de Puchuncaví influyentes en la contaminación

La comuna de Puchuncaví abarca 301 km² y se ubica hacia el sureste del complejo industrial Ventanas, en la zona costera de la Región de Valparaíso; esta área forma una cuenca natural, la que ha retenido la contaminación atmosférica (Environmental Resources Management, 1993). González y Bergqvist (1986) manifiestan que aunque la zona es naturalmente rica en metales como por ejemplo el cobre (Cu), los niveles determinados para el área son extremadamente superiores. Por un lado, el aumento de las emisiones de dióxido de azufre provenientes del complejo industrial Ventanas (Media de 399 ton d⁻¹; Environmental Resources Management, 1993) dio lugar a la deposición ácida fuerte con

daños graves a la vegetación local y la acidificación del suelo (pH en agua de 4,7; Ginocchio, 2000). Añadido a esto, las depositación atmosférica de partículas ricas en metales/metaloides (polvo de fundición; media de 12 ton d⁻¹; Environmental Resources Management, 1993) resultó en el enriquecimiento de los suelos con metales (por ejemplo, Cu, Zn, Pb, Cd) y metaloides (As) (González y Bergqvist, 1986; González and Ite, 1992; Ginocchio, 2000; Ginocchio *et al.*, 2004).

Las condiciones geomorfológicas y climáticas del lugar hacen que la contaminación en la zona se vea aún más favorecida; la primera variable influyente es la dirección del viento, que facilita el transporte de los contaminantes hacia el continente (Alfaro, 1988), quedando las laderas de exposición oeste, noroeste y suroeste (42% de la superficies total) expuestas a recibir los contaminantes atmosféricos (Pozo, 1993); así también, las condiciones climáticas caracterizadas por 6 a 8 meses de sequía (Pozo, 1993), le confieren la condición de aridez al lugar, que en conjunto con las cualidades geomorfológicas y el escaso grado de cohesión de las formaciones superficiales, acarrear problemas de erosión (Alfaro, 1988; Chile-Ambiente, 2002). Se cree que dado que los suelos son principalmente arenosos, con una fracción muy pequeña de arcilla y de materia orgánica, casi todos los metales acumulados estarían disponibles para la captación por las plantas (González, 1992). Sin embargo estudios recientes han demostrado que la lixiviación de metales en el perfil del suelo, debido a los eventos de lluvia, es bastante baja siendo de hasta 0,24 mg⁻¹ en los primeros 30 cm de profundidad (Reaman *et al.*, 2009). Esto se explicaría por el clima mediterráneo semiárido, con baja precipitación total anual (media de 300 mm, Pozo, 1993), alta evapotranspiración durante ocho meses del año y baja capacidad de infiltración del agua debido a la costra de sal formada en la parte superior del suelo (Environmental Resources Management, 1993).

En relación a la vegetación, la abundancia de neblinas costeras que se mantienen durante la mayor parte del año en el sector durante la noche y la mañana contribuyen a mantener la humedad constante, posibilitando la presencia de una estepa costera semidesértica compuesta de arbustos y hierbas adaptadas a la salinidad y la sequedad (Quintanilla, 1983).

Por encontrarse esta comuna en una de las regiones más antropizadas del país, además de poseer suelos donde predominan los de los tipos no cultivables, de capacidad IV (terrenos con severas limitaciones para el cultivo por causas del clima pendiente y erosión) es que los usos que se pueden dar son limitados encontrándose entre ellos el ganadero, forestal o industrial (Alfaro, 1988). Actualmente, el Plano Regulador de la comuna asigna a los terrenos cercanos al complejo industrial Ventanas un uso industrial.

2.2.2 Evidencias de la contaminación

En la actualidad, las emisiones del complejo industrial Ventanas, constituido por la fundición y refinería de cobre de CODELCO (Ex-ENAMI) y la planta termoeléctrica perteneciente a la empresa privada AES Gener S.A., han logrado cumplir con los límites de

emisión de material particulado y de SO₂ fijados por el D.S. N° 252/92, aún cuando para la estación Los Maitenes se han registrado periodos puntuales de excedencia, tanto para la norma primaria diaria como mensual de SO₂, destacando que existen posibilidades de que se vuelvan a dar concentraciones que excedan dichas normas en el lugar (CONAMA, 2005). Aún así, el deterioro ambiental provocado en los suelos de las zonas aledañas al complejo con anterioridad a este cumplimiento, se encuentran de manifiesto y un resumen de ellas es presentado a continuación:

2.2.2.1 Materia Orgánica

Aún cuando los suelos de esta región se caracterizan por poseer niveles originalmente bajos de nitrógeno inorgánico, lo que se asocia a contenidos bajos de materia orgánica (Rodríguez y Sepúlveda, 1977 citado por Rovira, 1984), este problema se ha acrecentado con la contaminación atmosférica a las que ha estado expuesta la zona. Es sabido que la lluvia ácida resultante de los altos niveles de SO₂ atmosféricos y el aumento de microelementos en el suelo, como los metales, afectan el número, diversidad y actividad de los organismos del suelo, inhibiendo la incorporación de materia orgánica al suelo debido a la menor productividad vegetal (Salomons, 1995; Wong, 2003).

2.2.2.2 Acidez

La lluvia ácida resultante de los altos niveles de SO₂ atmosféricos generados por el complejo industrial Ventanas generó una acidificación de los suelos de la zona (pH: 4-5) (González, 1992). Un ejemplo de esta situación la planteó Villaseca (1983), quien analizó las aguas de lluvia de la zona a comienzo de la década de los ochenta, detectando lluvia ácida en el Valle del Puchuncaví (pH 4,5). La acidificación del suelo puede afectar directamente a la vegetación debido a la toxicidad por aluminio (Mora *et al.*, 2002), pero también impone efectos indirectos sobre la vegetación al aumentar la biodisponibilidad de los metales incorporados en forma simultánea a los suelos por parte del complejo industrial Ventanas. Por ejemplo, un experimento mencionado por el Environmental Resources Management (1993) indica que algunos elementos metálicos como el Cu y el cinc (Zn) presentes en suelos con características ácidas disminuyen el crecimiento vegetal en especies sensibles.

2.2.2.3 Metales y Metaloides

González y Bergqvist (1986) informaron que en el Valle del Puchuncaví los niveles de metales y metaloides en los suelos del sector de máxima acumulación son de hasta 330 veces para el Cu, 241 veces para el arsénico (As), 48 veces para el plomo (Pb) y el cadmio (Cd) y 13 veces para el Zn, respecto a las condiciones basales normales para la zona. Sin embargo, los efectos ambientales de los metales no están directamente relacionados con los contenidos totales encontrados en los suelos, sino con la fracción biodisponible. En este

contexto, el estudio de Alfaro (1988) hace mención a que los metales disponibles para las plantas se encuentran excedidos prácticamente en toda el área y son del orden de 50, 10 y casi 2 veces los niveles basales normales para Cu, Pb y Zn, respectivamente.

Así mismo, es importante de considerar que el enriquecimiento metálico en el suelo se ha mantenido relativamente en la superficie del suelo, sin mostrar una lixiviación importante a las capas profundas (Reaman *et al.*, 2008).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Suelo de estudio

El suelo de estudio procede del sector de Los Maitenes en el Valle del Puchuncaví ($32^{\circ} 45'$ LS y $71^{\circ} 29'$ LW), a unos 2 km al noreste del Complejo Industrial Ventanas (Figura 1). Este lugar corresponde a una de las áreas más afectadas por la contaminación generada por el Complejo Industrial Ventanas (González y Bergqvist, 1986). Esta zona fue abandonada para cultivo hace unos 20 años y no posee otro tipo de intervención humana, ya que actualmente corresponde a un loteo industrial que no ha sido habilitado como tal.

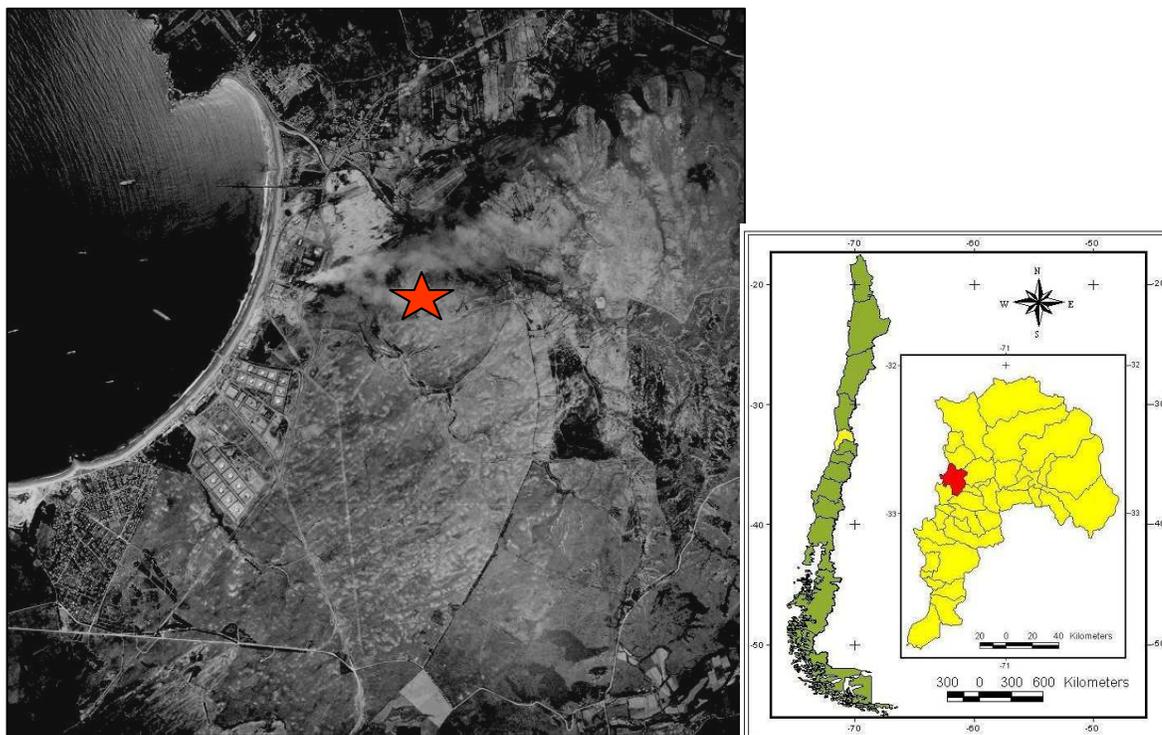


Figura 1: Fotografía aérea de la zona de estudio. La estrella indica la ubicación del sector Los Maitenes, en el Valle de Puchuncaví, desde donde se colectó suelo superficial (0-20 cm) para este estudio. En la esquina inferior derecha se muestra una imagen referencial de la ubicación del Valle de Puchuncaví en la Región de Valparaíso, Chile.

En el sector de Los Maitenes se tomó una muestra de 60 kg de suelo superficial (0-20 cm). El área específica de muestreo correspondió a 9 m^2 , en los cuales fueron seleccionados 6 puntos al azar; de cada punto fue extraído el suelo con una pala de acero inoxidable. La misma cantidad de suelo se obtuvo de un sitio de referencia situado 5 km al sur de las

instalaciones del complejo industrial Ventanas (32 ° 47 '26 "LS, 71 ° 31' 20" LW), el que fue utilizado como control positivo. Posteriormente, las muestras fueron guardadas en bolsas plásticas y transportadas al Laboratorio de Suelos y Plantas del Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, CIMM.

Las características fisicoquímicas de los suelos de estudio se muestran en el Cuadro 1. El suelo contaminado y el del sitio de referencia son similares, con excepción del pH (una unidad menor en Los Maitenes) y los contenidos totales de Cu, Zn, Cd, Pb, y As (mayores en Los Maitenes). En relación a las características específicas del suelo de estudio, su textura es mas bien arenosa, con muy bajo porcentaje de arcilla; sus niveles de pH en agua se encuentran dentro de los rangos considerados como ácidos y corresponde a un suelo con bajo porcentaje de materia orgánica y nutrientes disponibles. El contenido de metales totales en el suelo de estudio es superior a los rangos normales para la zona, siendo esto muy evidente para el contenido de Cu total.

Cuadro 1: Características fisicoquímicas generales del suelo de estudio (altamente contaminado) y del sitio de referencia, Valle del Puchuncaví, Región de Valparaíso.

| Parámetro | Los Maitenes (Alta contaminación del suelo) | Sitio de referencia (Baja contaminación del suelo) |
|---|--|---|
| Arena (%) | 78 | 83 |
| Arcilla (%) | 3 | 3 |
| Limo (%) | 19 | 14 |
| Densidad (g cm ⁻³) | 1,4 | 1,4 |
| pH (water) | 5,6 | 6,3 |
| CE (dS L ⁻¹) | 0,1 | 0,2 |
| CIC (cmol+ kg ⁻¹) | 9,1 | 8,6 |
| Materia Orgánica (%) | 2,1 | 1,3 |
| N total(%) | 0,1 | 0,1 |
| N disponible(mg kg ⁻¹) | 29,4 | 15,3 |
| P disponible (mg kg ⁻¹) | 42,5 | 33,1 |
| K intercambiable (mg kg ⁻¹) | 216 | 267 |
| Cu total (mg kg ⁻¹) | 685 | 209 |
| Zn total (mg kg ⁻¹) | 159 | 115 |
| Cd total (mg kg ⁻¹) | 0,9 | 0,2 |
| Pb total (mg kg ⁻¹) | 85 | 19 |
| Fe total (%) | 5 | 5 |
| As total (mg kg ⁻¹) | 51 | 21 |

CE: conductividad eléctrica; CIC: capacidad de intercambio catiónico.

3.2 Acondicionadores de suelo

Para la estabilización “in situ” de los suelos de estudio se utilizó como enmiendas los siguientes acondicionadores: Zeolita (Z), Zeolita activada (ZA), Biosólidos (Bc), Conchuela (Co). Estos acondicionadores fueron elegidos considerando las características distintivas de la contaminación del lugar. Cabe destacar que los metales como el Cu, Cd, Pb y Zn se comportan de manera diferente a los metaloides como el As, pues tienen solubilidades mayores a pHs opuestos. Esto planteó la necesidad de tratarlos de manera independiente, con acondicionadores específicos a cada uno, y/o cuidando la neutralización del suelo a valores cercanos a un pH de 6,5 (U.S. EPA, 2007), de forma de alcanzar un equilibrio entre la mayor solubilización del As a pH neutro-alcalino y la inmovilización adecuada de los metales presentes a pH del suelo levemente ácido.

La zeolita seleccionada es natural y es distribuida comercialmente por la empresa Andayen

Ltda. Corresponde a una mezcla de Clinoptilolita, Huelandita y Mordenita, con tamaño de partícula inferior a 75 micras y capacidad de intercambio catiónico de 80-100 meq 100 g⁻¹. Se caracteriza por tener sitios activos de afinidad con metales, tales como el Cu, Cd, Pb y Zn, inmovilizándolos. Una fracción de la zeolita fue usada como materia prima para producir zeolita activada con hierro (Fe); para ello, se usó un método de activación, basado en el sometimiento de ésta a una solución de 0,2 M de FeSO₄ (Bonnin, 2000); la zeolita activada tendría especial afinidad por el As.

Los biosólidos se obtuvieron de la planta de tratamiento de aguas servidas El Trebal, perteneciente a la empresa Aguas Andinas S.A. Corresponden a lodos que vienen directamente de las centrifugadoras y por lo tanto sin estabilizar; su función está relacionada con las características nutritivas y orgánicas, además de ser un quelante de cationes de metales. Las características específicas de los biosólidos utilizados se muestran en el Cuadro 2. Es importante destacar que según la tabla anterior los niveles de los metales se encuentran acordes al Reglamento para el Manejo de Lodos Generados en Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas, para poder utilizarlos como enmiendas en suelos y no existen características riesgosas para su aplicación con ninguno de los otros parámetros expuestos.

Cuadro 2: Características generales de los biosólidos salidos de la centrífuga, generados por la Planta de Tratamiento de aguas servidas domiciliarias El Trebal, Región Metropolitana.

| | Textura (%) | | | pH | MO (%) | CE (dS/m ²) | CIC (meq/100 g) | Cu (mg/kg) | Zn (mg/kg) | Fe (mg/kg) | Ca (mg/kg) | SO ₄ (mg/L) | Cont agua (%) |
|------------|-------------|------|-------|-----|--------|-------------------------|-----------------|------------|------------|------------|------------|------------------------|---------------|
| | Arcilla | Limo | Arena | | | | | | | | | | |
| Biosólidos | 14,9 | 13,5 | 71,6 | 7,5 | 31,9 | 14 | 52,3 | 866 | 1371 | 14434 | 42706 | 9483 | 76 |

MO: materia orgánica; CE: conductividad eléctrica; CIC: capacidad de intercambio catiónico.

La conchuela, un material rico en carbonato de calcio, fue obtenida de la empresa Sociedad Contractual Minera Aceituno; este material tiene la capacidad de neutralizar la acidez del suelo. Se evaluó como alternativa a la cal agrícola normalmente usada para estos propósitos (neutralización de suelos ácidos).

3.3 Diseño Experimental

3.3.1 Preparación de los sustratos experimentales

El presente ensayo experimental fue realizado en la sala de cultivo de plantas del Laboratorio de Fitotoxicidad y Fitorremediación del Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM).

Los tratamientos experimentales definidos en base al suelo de estudio y los acondicionadores seleccionados se detallan en el Cuadro 3. Se consideró el suelo del sitio de referencia como control positivo y al suelo de la zona de estudio sin ningún tratamiento como control negativo. Se probaran 14 tratamientos diferentes y se realizarán 4 réplicas para cada uno de ellos, para conseguir de esta manera cubrir la heterogeneidad del suelo y coleccionar datos con un rango de variabilidad que sean suficientemente representativos.

Con respecto a las cantidades usadas de cada enmienda, se consideraron los valores sugeridos por la U.S. EPA (2007). En el caso del pH, esta agencia propone un ajuste entre 5,5 y 6,5, para disminuir la biodisponibilidad y la fitotoxicidad de los metales presentes en los suelos contaminados, cuando el As también está presente como contaminante. De esta forma, se utilizaron protocolos de laboratorio para calcular el equilibrio ácido base y definir la dosis específica de aplicación de conchuela para llegar a un pH de 6,5, la que correspondió a 0,5% peso/peso (p/p, base seca). Para el caso de los biosólidos se definieron dos dosis de aplicación, considerando la dosis máxima permitida (50 ton ha^{-1} , en peso seco) para suelos degradados, según el Reglamento para el Manejo de Lodos Generados en Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas y el doble de ella (100 ton ha^{-1} , peso seco), dosis que corresponden a un 3% y 6% respectivamente, si se considera la densidad del suelo de la zona de 1.4 g/cm^3 y una profundidad de aplicación de 10 cm. Así también, se consideró como referencia las dosis utilizadas en los EE.UU en sitios contaminados con metales que han sido restaurados con biosólidos, en los cuales se añaden alrededor de 25-100 toneladas por hectárea (U.S. EPA, 2007). Se determinó una tasa de aplicación del 10% p/p (peso/peso) para la zeolita, en base a las dosis que se han utilizado en sitios similares descritos en la literatura (Moirou *et al.*, 2002). En el caso de la Zeolita activada, que tiene 5 veces más hierro que la zeolita natural ($42,061 \text{ mg kg}^{-1}$ y $8,248 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente), la dosis de aplicación fue de un 4,2% p/p, establecida considerando la concentración total de As presente en el suelo de estudio ($51,1 \text{ mg kg}^{-1}$).

Las enmiendas y el suelo contaminado fueron distribuidos en recipientes de plástico y mezclados de manera homogénea durante 15 min, utilizando un Roller automático y, siguiendo las dosificaciones especificadas en el Cuadro 3. Una fracción por cada mezcla experimental fue usada para determinar la capacidad de campo y el punto de marchitez permanente, utilizando la metodología estándar de Klute (1986). Otro *batch* fue separado para realizar las mismas determinaciones analíticas del suelo de estudio mostradas en el Cuadro 1 (caracterización al tiempo cero). El resto de la mezcla se distribuyó en 4 macetas

plásticas de aproximadamente 1 L, hasta un nivel de 800 mL, correspondientes a las 4 réplicas a utilizar en este ensayo experimental.

Cuadro 3: Dosificación de los tratamientos experimentales. Los porcentajes son en peso y en base seca.

| Código tratamiento | Conchuela (Co) (%) | Biosólidos (Bc) (%) | Zeolita (Z) (%) | Zeolita activada (ZA) (%) |
|-----------------------|-----------------------|------------------------|--------------------|------------------------------|
| C+ | | | | |
| (suelo de referencia) | | | Sin Enmienda | |
| C- | | | | |
| (suelo contaminado) | | | Sin enmienda | |
| Co | 0,5 | - | - | - |
| CoZA | 0,5 | - | - | 1 |
| CoZ | 0,5 | - | 10 | - |
| CoZZA | 0,5 | - | 10 | 1 |
| CoBc3 | 0,5 | 3 | - | - |
| CoBc6 | 0,5 | 6 | - | - |
| CoBc3ZA | 0,5 | 3 | - | 1 |
| CoBc3Z | 0,5 | 3 | 10 | - |
| CoBc3ZZA | 0,5 | 3 | 10 | 1 |
| CoBc6ZA | 0,5 | 6 | - | 1 |
| CoBc6Z | 0,5 | 6 | 10 | - |
| CoBc6ZZA | 0,5 | 6 | 10 | 1 |

3.3.2 Primera etapa: cinética inicial del suelo.

Durante un período de 1 mes se monitoreó la cinética de reacción de cada tratamiento experimental. Para ello, se instaló al momento del establecimiento del ensayo un “Rhizon® soil pore water sampler”, de forma de extraer muestras de agua de poro (solución suelo) desde cada maceta, semana por medio. Las muestras de agua de poro fueron caracterizadas según pH, actividad del ión cobre (pCu^{+2}) y conductividad eléctrica y posteriormente fueron fijadas y procesadas para la determinación del contenido de carbono orgánico disuelto (COD) y los contenidos totales de metales y metaloides disueltos (Cu, Zn y As), según se describe más abajo.

Las macetas fueron regadas una vez a la semana a un 70% de la capacidad de campo de cada sustrato, de permitir el desarrollo vegetal natural.

3.3.3 Segunda etapa: cultivo con *Lolium perenne* L.

Al comienzo de la quinta semana de experimentación, se sembró 0,6 gramos de semillas de *Lolium perenne* L. (*Ballica perenne*) por maceta, que corresponde a una dosis usada comúnmente en ensayos experimentales de este tipo (Ejemplo: Santibáñez *et al.*, 2008). Se utilizó esta especie vegetal como una planta tipo de estudio, ya que ha sido utilizada frecuentemente en ensayos en suelos contaminados con metales y metaloides en otros países y tiene la característica de ser una especie sensible a los metales y a la acidez del suelo (Arienzo *et al.*, 2004).

Las macetas fueron regadas diariamente, verificando la mantención a un 70% de capacidad de campo de cada sustrato. Al cabo de 3 meses de cultivo, se tomaron muestras de agua de poro a partir de cada tratamiento, para el monitoreo de las mismas variables químicas realizadas en la primera etapa. Adicionalmente, se cosecharon los vástagos de cada maceta para determinar el peso seco (biomasa en base a peso seco); estos tejidos aéreos secos fueron usados para determinar los contenidos de metales/metaloides, todo según se describe más abajo.

Finalmente, las macetas de experimentación fueron divididas en dos mitades, en forma vertical, para estimar la densidad radical según se describe mas abajo.

3.3.4 Caracterización de los sustratos experimentales, agua de poro de sustratos y tejidos vegetales

Las determinaciones físicas y/o químicas de los suelos, de las aguas de poro y de los tejidos vegetales fueron realizadas en el Laboratorio de Suelos y Plantas del CIMM.

3.3.4.1 Sustratos experimentales

Se determinaron las mismas características fisicoquímicas mostradas de los sustratos antes del experimento para los sustratos experimentales sometidos a los distintos tratamientos; para ello, las muestras de suelo fueron homogenizadas y esterilizadas con vapor (70° C), para eliminar el banco de semillas existente (Stuckey *et al.*, 2009), posteriormente, fueron secadas a 30° C y tamizadas a < 2mm utilizando tamices con malla de nylon, para finalmente determinar las características fisicoquímicas generales por métodos estandarizados; pH (USDA, 2004), conductividad eléctrica (USDA, 2004), capacidad de intercambio catiónico (USDA, 1996), concentración de materia orgánica (Sawadka *et al.*, 2006), nitrógeno total (USDA, 2004), nitrógeno disponible (USDA, 2004), fósforo disponible (USDA, 2004), potasio disponible (USDA, 2004), textura (Sawadka *et al.*, 2007) y densidad aparente (Sawadka *et al.*, 2007) mientras que las concentraciones totales de Cu, Cd, Pb, Zn y As en el suelo fueron determinados de acuerdo a los procedimientos descritos por (USDA, 2004).

3.3.4.2 Agua de poro de los sustratos experimentales

Se determinó en las aguas de poro extraídas desde las macetas experimentales el pH, el cobre iónico libre (Cu^{2+}) y la conductividad eléctrica (CE). El pH y la CE fueron determinados por potenciometría. El cobre iónico libre se determinó utilizando un electrodo selectivo de iones Cu^{2+} (Orion 9629 BN), el cual fue calibrado usando soluciones tampón de ácido iminodiacético (Rachou, *et al.*, 2007). Con los valores de Cu^{2+} se calculó la actividad de los iones Cu^{2+} libre o pCu^{2+} , siendo $\text{pCu}^{2+} = -\log [\text{Cu}^{2+}]$.

Las muestras de agua de poro fueron posteriormente fijadas con H_3PO_4 para el caso de la determinación del contenido de carbono orgánico disuelto (COD), fijadas con HNO_3 para el caso de los contenidos totales de metales disueltos (Cu y Zn) y sin fijar para la determinación del contenido total disuelto de As, y posteriormente se utilizó la metodología descrita por la “United States Environmental Protection Agency”, US EPA (2002) en su estimación.

3.3.4.3 Tejidos vegetales

Una vez cosechados, los tejidos vegetales aéreos (vástagos) de ballica fueron lavados con agua desmineralizada; el exceso de agua fue eliminado con papel absorbente. Los vástagos fueron luego secados en una estufa a 30°C hasta alcanzar un peso constante (aproximadamente 3 días), para ser pesados en una balanza analítica de precisión. Posteriormente, se determinó las concentraciones de metales (Cu, Zn, Fe) y metaloides (As), en los vástagos por métodos estandarizados (Jones and Case, 1990). Se realizó digestión y extracción ácida en un horno microondas, con posterior determinación de los metales y del As en un espectrofotómetro de absorción atómica. A partir de las concentraciones de metales (Cu, Zn y Fe) y de As determinadas en los vástagos de *Lolium perenne* L. se calculó la acumulación total de cada elemento en los tejidos aéreos de ballica por maceta experimental. Para esto, se multiplicaron los valores de concentración de cada elemento por la biomasa aérea seca total obtenida por maceta de experimentación.

Se realizó una estimación de la cobertura radical utilizando una cuadrícula sobrepuesta en el corte vertical de la maceta, con cuadrículas de 1 X 1 cm. Se registró el número de puntos de intersección del total del cuadrículado efectivamente interceptado por las raíces, lo que permitió estimar la cobertura radical según la proporción de la superficie de la cuadrícula que se encontraba con raíces.

3.3.5 Análisis estadísticos

La contrastación de las distintas variables respuestas determinadas en los sustratos experimentales, las aguas de poro y los tejidos vegetales se realizó mediante estadística paramétrica, utilizando análisis de varianza de una vía (ANOVA), considerando un modelo de efecto fijo de análisis de varianza y usando el Test de Comparación de Medias de Tukey para un nivel de significancia de $p=0,05$, como test “a posteriori”. Se utilizó este test dado que tiene la capacidad de examinar con un mismo estadístico todas las medias muestrales en estudio. Se realizaron, además, análisis de correlación simple de algunas variables respuesta cuando se consideró pertinente. Se utilizó el software estadístico INFOSTAT para todos los análisis estadísticos.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto de las enmiendas sobre el pH y la solubilidad de los metales y metaloides en los suelos contaminados

4.1.1 Efecto inicial de las enmiendas sobre las características físicas y químicas del suelo de estudio

Los efectos de las distintas enmiendas en las características físicas y químicas generales del suelo contaminado de estudio se entregan en el Cuadro 4. La textura de los suelos con enmiendas no presentó mayores diferencias entre los tratamientos, conservándose la característica franco-arenosa, con poca cantidad de arcillas de los suelos control. Por otro lado, la capacidad de campo y el punto de marchitez permanente mostraron un aumento al añadir enmiendas al suelo de estudio; específicamente, ambos parámetros aumentaron en todos los tratamientos con aplicación de biosólidos, en una forma dosis-dependiente, donde la humedad aprovechable dada por la diferencia existente entre estos dos parámetros tiende a ser mayor. La materia orgánica presente en el suelo aumentó con la aplicación de biosólidos, particularmente con la dosificación mayor de biosólidos, donde se duplicó. Respecto a los macronutrientes, es interesante mencionar que el N total y el N y P disponibles aumentaron ostensiblemente en todos los tratamientos en los cuales se agregó biosólidos, especialmente los niveles de nitrógeno disponible.

El pH del sustrato aumentó en todos los tratamientos en comparación al suelo contaminado (Control negativo, C-), llegando incluso a niveles de pH 8 en algunos de ellos. Los tratamientos con pH óptimos, según los objetivos de este estudio, son aquellos a los que les fue agregado únicamente conchuela o conchuela y zeolita activada, en donde se alcanzaron niveles de pH de 6,47 y 6,21, respectivamente. La conductividad eléctrica de los sustratos con enmiendas tendió a aumentar en todos los tratamientos experimentales, presentándose un aumento marcado a mayores dosis de biosólidos. La capacidad de intercambio catiónico (CIC) tuvo un aumento relevante frente a la adición de zeolita; en aquellos tratamientos donde la zeolita fue mezclada con zeolita activada, el aumento tendió a ser mayor respecto del suelo control (-). La aplicación de biosólidos adicionalmente a la zeolita, aumentó aún más la CIC del suelo.

Los niveles totales de todos los metales determinados y del As (Cuadro 5) no variaron de manera importante en los tratamientos experimentales respecto al control (-). Cabe destacar que el Zn mostró un comportamiento disímil a los otros metales ya que tendió a aumentar sus valores respecto del control (-), particularmente en aquellos tratamientos en los que se adicionó biosólidos. Esto se debería al alto contenido de Zn de esta enmienda (ver Cuadro 2).

Cuadro 4: Características fisicoquímicas generales de los sustratos experimentales al tiempo inicial (T0). Código de los tratamientos según el Cuadro 1.

| Código tratamiento | Textura Clase textural | Textura | | | Densidad aparente (g/cm ³) | Punto de marchitez (% pp) | Capacidad de campo (100%) - g agua | pH | CE (dS/l) | CIC (cmol+/kg) | MO (%) | N total (%) | N disp. (mg/kg) | P disp. (mg/kg) | K disp. (mg/kg) |
|-----------------------|---------------------------|--------------|----------------|-------------|--|---------------------------------|---|------|--------------|-------------------|-----------|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | Arena (%) | Arcilla (%) | Limo (%) | | | | | | | | | | | |
| C+ | Arenoso-franca | 83 | 3 | 14 | 1,4 | 4,6 | 24,3 | 6,30 | 0,17 | 8,6 | 1,25 | 0,06 | 15,3 | 33,1 | 267 |
| C- | Arenoso-franca | 78 | 3 | 19 | 1,4 | 4,7 | 25,2 | 5,58 | 0,14 | 9,1 | 2,10 | 0,09 | 29,4 | 42,5 | 216 |
| Co | Arenoso | 90 | 0 | 10 | 1,4 | 4,5 | 25,6 | 6,47 | 0,16 | 8,0 | 1,93 | 0,08 | 31,1 | 41,1 | 218 |
| CoZA | Arenoso | 90 | 0 | 10 | 1,4 | 4,8 | 22,9 | 6,21 | 0,18 | 8,3 | 1,77 | 0,12 | 35,2 | 39,7 | 202 |
| CoZ | Franco-arenosa | 73 | 6 | 21 | 1,3 | 7,5 | 27,1 | 7,39 | 0,59 | 11,7 | 2,21 | 0,08 | 28,6 | 39,7 | 216 |
| CoZZA | Franco-arenosa | 73 | 8 | 19 | 1,4 | 8,1 | 27,9 | 7,17 | 0,55 | 17,3 | 1,93 | 0,08 | 52,6 | 35,7 | 226 |
| CoBc3 | Arenoso | 90 | 0 | 10 | 1,3 | 5,8 | 30,1 | 7,32 | 1,04 | 9,3 | 2,97 | 0,21 | 427 | 96 | 216 |
| CoBc6 | Arenoso | 90 | 0 | 10 | 1,1 | 7,1 | 38,7 | 7,01 | 1,48 | 10,6 | 4,28 | 0,24 | 457 | 152 | 233 |
| CoBc3ZA | Arenoso | 90 | 0 | 10 | 1,2 | 5,6 | 30,3 | 7,50 | 0,86 | 9,3 | 2,61 | 0,20 | 387 | 87,9 | 236 |
| CoBc3Z | Franco-arenosa | 73 | 6 | 21 | 1,2 | 7,7 | 34,0 | 7,95 | 1,07 | 15,8 | 2,32 | 0,14 | 413 | 60,1 | 233 |
| CoBc3ZZA | Franco-arenosa | 73 | 8 | 19 | 1,2 | 7,0 | 33,5 | 8,02 | 0,88 | 15,8 | 2,15 | 0,19 | 414 | 73,8 | 230 |
| CoBc6ZA | Arenoso | 90 | 0 | 10 | 1,1 | 6,8 | 42,3 | 7,39 | 1,32 | 11,4 | 4,14 | 0,28 | 593 | 147 | 254 |
| CoBc6Z | Franco-arenosa | 73 | 6 | 21 | 1,1 | 19,4 | 39,5 | 7,90 | 1,56 | 15,8 | 4,00 | 0,31 | 796 | 152 | 267 |
| CoBc6ZZA | Franco-arenosa | 73 | 8 | 19 | 1,1 | 21,0 | 39,5 | 7,92 | 1,53 | 16,6 | 4,01 | 0,27 | 833 | 147 | 267 |

CE, conductividad eléctrica; CIC, capacidad de intercambio catiónico; MO, materia orgánica.

Cuadro 5: Contenido total de metales y metaloides en los sustratos experimentales al tiempo inicial (T0). Código de los tratamientos según el Cuadro 1.

| Código tratamiento | Metal Total | | | | |
|-----------------------|-------------|-------|------|------|------|
| | Cu | Zn | Cd | Pb | As |
| (mg/kg) | | | | | |
| C+ | 209,0 | 115,4 | 0,21 | 19,3 | 20,7 |
| C- | 684,6 | 158,6 | 0,90 | 84,5 | 51,1 |
| Co | 619,5 | 146,8 | 0,63 | 67,4 | 50,9 |
| CoZA | 629,8 | 146,0 | 0,81 | 59,5 | 46,2 |
| CoZ | 633,2 | 147,6 | 0,81 | 67,4 | 38,0 |
| CoZZA | 603,9 | 144,1 | 0,90 | 68,9 | 42,8 |
| CoBc3 | 710,5 | 197,1 | 0,84 | 72,8 | 51,3 |
| CoBc6 | 649,1 | 196,0 | 0,68 | 62,8 | 53,4 |
| CoBc3ZA | 721,7 | 183,8 | 1,53 | 66,8 | 44,3 |
| CoBc3Z | 665,2 | 182,2 | 0,90 | 71,7 | 50,7 |
| CoBc3ZZA | 667,0 | 180,2 | 0,69 | 77,8 | 54,0 |
| CoBc6ZA | 687,2 | 216,8 | 0,96 | 77,5 | 45,6 |
| CoBc6Z | 616,8 | 207,7 | 0,72 | 69,1 | 52,5 |
| CoBc6ZZA | 658,3 | 206,8 | 1,06 | 74,5 | 47,7 |

4.1.2 Cinética de reacción de los acondicionadores sobre el pH y la solubilidad de los metales y metaloides del suelo de estudio

Se obtuvieron efectos significativos en el pH tanto en la primera ($F=241,09$, g.l.= 41, $p<0,0001$) como en la tercera ($F=158,24$, g.l.= 41, $p<0,0001$) y decimocuarta semana ($F=31,57$, g.l.= 41, $p<0,0001$) desde el establecimiento del ensayo experimental, llegando a niveles cercanos al neutro e incluso mayores que el suelo control (+) usado como referencia (Cuadro 6). Específicamente, el valor de pH del tratamiento sometido sólo a conchuela (Co) subió durante el primera semana una unidad respecto del control (-) y al agregarle a esta enmienda zeolita pura el efecto se vio favorecido subiendo en prácticamente 2 unidades al final del primer mes. Cabe destacar que también se observa un patrón regular del sustrato frente a la adición de biosólidos, donde esta enmienda beneficia en forma leve el aumento de pH, sin importar su dosis, siendo esta diferencia significativa para el caso en donde había sido añadida también como enmienda la zeolita pura o activada además de la conchuela (Ver apéndice 1). Al final del experimento (semana 14), cuando ya estaba presente la especie cultivada, los valores de pH no siguieron con un patrón regular pero si tendieron a neutralizarse, presentándose diferencias significativas respecto a los valores de pH medidos al inicio del experimento (ver apéndice 2). Cabe destacar que con la adición simultánea de las cuatro enmiendas utilizadas se obtuvieron valores de pH por encima de los valores considerados como óptimos según los objetivos de este estudio (pH de 6,5; U.S. EPA, 2007). Es importante mencionar que se encontró una correlación positiva entre el contenido de Carbono Orgánico Disuelto (COD) y el pH de las aguas de poro, esta relación

es relevante porque el contenido de COD se asocia a la cantidad de materia orgánica presente en el suelo, lo que en este estudio está vinculado a las dosis de biosólidos utilizados como enmienda. De esta manera, la adición de biosólidos influiría el aumento en los valores de pH del suelo (Figura 2); esto ratificaría que la adición de biosólidos beneficia el aumento de pH en los sustratos, aunque en forma leve por sobre la neutralización lograda con la adición de conchuela.

Respecto a la evolución del contenido total de metales disueltos en los sustratos experimentales (Cuadro 7), se puede mencionar que inicialmente la concentración de Cu total disuelto sufrió una disminución en todos los tratamientos con enmiendas en relación al suelo control (-), la que se acrecentó aún más en la tercera semana de experimentación. Los tratamientos más efectivos en reducir los niveles de Cu total disuelto en el agua de poro correspondieron al tratamiento CoBc3 y el tratamiento CoBc3ZA, siendo este último el de mejor resultado; ambos tratamientos alcanzaron niveles de Cu cercanos al control (+). El tratamiento que menos influyó en el contenido de Cu del agua de poro respecto del control (-) fue el tratamiento CoZ, el cual presentó niveles prácticamente similares al control (-). Hacia el final del experimento, y con la especie vegetal creciendo, los tratamientos que incluían biosólidos tendieron a aumentar los valores de Cu en el agua de poro, aunque se mantuvieron siempre por debajo del control (-); el resto de los tratamientos con adición de enmiendas, continuaron con la tendencia a la baja en este parámetro, siendo los más efectivos los tratamientos Co y CoZA (Cuadro 7).

Al considerar el contenido de cobre iónico libre (Cu^{2+}) en el agua de poro, medido como actividad o pCu^{2+} (Cuadro 8), se observa que los valores crecientes de este parámetro, obtenidos en este experimento, que significan menores valores de Cu^{2+} , son aún más evidentes que los obtenidas para el Cu total disuelto mencionado anteriormente. En la primera semana ya se observaron aumentos de pCu^{2+} sobre los niveles del control (-), presentando todos los sustratos experimentales diferencias estadísticamente significativas respecto del control (-) ($F=165,31$, g.l.= 41, $p<0,0001$) (ver apéndice 3). Este comportamiento se mantiene hacia la tercera semana de experimentación, en donde todos los tratamientos alcanzan niveles superiores al control (+), lo que significa menores valores de Cu^{2+} respecto de dicho control ($F=107,94$, g.l.= 41, $p<0,0001$). Posteriormente, ya en la última semana de experimentación, cuando la especie cultivada ya estaba presente, se observa que se mantiene esta tendencia, alcanzándose niveles de cambio significativos incluso con la sola adición de conchuela como acondicionador ($F=27,32$, g.l.= 41, $p<0,0001$). Esto último indica que pudiera existir cierta relación entre la acción de la conchuela, que neutraliza el pH, y la presencia de este metal en estado iónico en los sustratos. En la Figura 3a se muestra que hacia la última semana de experimentación existe una clara relación positiva entre el pH y el contenido de Cu^{2+} medido como pCu^{2+} ($R^2=0,85$), lo que implicaría que el descenso en el contenido de Cu^{2+} en el sustrato (subida de los niveles de pCu^{2+}) se vería fuertemente explicado por el incremento del pH en los tratamientos. En este ámbito, cabe destacar que existe una notable diferencia entre el comportamiento de este metal medido como Cu total disuelto, ya que no se evidencia relación entre el Cu total disuelto y el parámetro pH (Figura 3b). En relación a la acción de

los acondicionadores en el tiempo, se observa que sólo existe una diferencia significativa a lo largo de las semanas de experimentación respecto de la acción en las bajas de este parámetro tanto de la zeolita como de la zeolita activada (Ver apéndice 4), siendo la acción de estas más favorable a medida que transcurrían las semanas.

Así mismo, se observó también que los valores de COD, que están directamente relacionados con las dosis de biosólidos presentes en cada tratamiento, no se encuentran relacionados, de manera importante, con los niveles de Cu total disuelto encontrados en cada tratamiento. Esto pudiera significar que la adición de biosólidos no influiría de manera trascendente en los valores alcanzados por éste en el suelo (Figura 4a) y que por lo tanto no lo está movilizando. De la misma manera se encontró que tampoco se puede vincular el contenido de Cu^{2+} a las cantidades de biosólidos añadidas, ya que tampoco presentan una correlación importante (Figura 4b) por lo que se podría deducir que los biosólidos no influyen en las cantidades de Cu^{2+} disponible para las plantas.

En relación al contenido de Zn total disuelto en el agua de poro (Cuadro 7), los resultados demuestran que en la primera semana disminuyeron los contenidos de este elemento con todos los tratamientos, incluso por debajo del control (+). A la tercera semana, disminuyeron aún más los contenidos de este elemento en el agua de poro; el único tratamiento que no alcanzó valores por debajo del control (+) en la primera semana fue el tratamiento CoZA, pero ya en la tercera semana alcanzó valores más bajos que el control (+), aunque con menor efectividad respecto del resto de los tratamientos. Al final del experimento, cuando las plantas ya estaban presentes, se observó que aún cuando en general se siguió con la tendencia a la baja, esta fue mínima e incluso en algunos tratamientos existió un pequeño aumento (Cuadro 7); cabe mencionar que sólo existieron 2 tratamientos en los cuales no se llegó a los niveles de Zn del control (+) y corresponden al tratamiento CoBc6 y el tratamiento CoBc6ZA, destacando que ambos incluyen en sus mezclas un 6% de biosólidos; al respecto cabe mencionar que se encontró que no existía relación importante al considerar el COD presente en cada tratamiento y los niveles de Zn alcanzados (Figura 5), lo que significaría que las cantidades de biosólidos añadidas no incrementan ni disminuyen de manera importante los niveles alcanzados de este metal y su influencia es mínima.

Con respecto al contenido de As total disuelto en el agua de poro (Cuadro 7), el comportamiento fue más variable, encontrándose en la primera semana tratamientos que alcanzaron niveles de As mayores que el control (-), tal como los tratamientos CoZ y CoBc6Z; este efecto aumentó hacia la tercera semana, llegando incluso a tener más de 4 y 7 veces el contenido de As respectivamente en comparación con el control (-). Al respecto es interesante mencionar que ambos tratamientos incluyen conchuela, zeolita y/o biosólidos, siendo todos de naturaleza neutralizadora pero como se había mencionado anteriormente aumentos de pH por sobre valores de 6,5 pudieran tener un efecto negativo relacionado con la solubilización de As al agua de poro. Dentro de los tratamientos que podrían considerarse más efectivos en reducir los contenidos de As total disuelto está el tratamiento CoZA. Es interesante mencionar que todos aquellos tratamientos en los que se agregó

zeolita activada (ZA) presentaron, en general, tendencias a presentar contenidos menores de este elemento durante la primera semana del ensayo, alcanzando niveles de As menores al control (-). Ya al final del experimento, con la especie vegetal presente, los mayores aumentos en As total soluble en el agua de poro fueron los tratamientos CoZ, CoZZA, CoBc3Z y CoBc6Z, llegando a niveles superiores a 100 mg L^{-1} , que corresponde a más de 3 veces el control (-). Por otro lado, el tratamiento CoZA siguió con su reacción favorable, logrado alcanzar niveles levemente más bajos que el control (-). Refiriéndonos a la influencia de la adición de biosólidos en los niveles de este metaloide se tiene que aún cuando se observa una tendencia a aumentar los niveles esta no resulta una correlación trascendente (Figura 6) por lo que se puede inferir que esta enmienda no influiría drásticamente en las cantidades encontradas de As.

Cuadro 6: Evolución del pH medido en el agua de poro de los sustratos experimentales. Se muestra el promedio (Prom) y la desviación estándar (DE). Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas entre tratamientos por semana indican diferencias significativas.

| Código tratamiento | pH | | | | | |
|-----------------------|---------------------|------|-----------------------|------|---------------------|------|
| | sem 1 | | sem 3 | | sem 14 | |
| | Prom | DE | Prom | DE | Prom | DE |
| C+ | 4,72 ^a | 0,07 | 4,90 ^a | 0,11 | 5,11 ^b | 0,38 |
| C- | 4,61 ^a | 0,07 | 4,81 ^a | 0,07 | 3,86 ^a | 0,71 |
| Co | 5,98 ^c | 0,33 | 6,50 ^{b c} | 0,20 | 7,00 ^{c d} | 0,60 |
| CoZA | 5,40 ^b | 0,08 | 6,17 ^b | 0,01 | 7,02 ^{c d} | 0,11 |
| CoZ | 6,98 ^d | 0,40 | 7,17 ^{e f} | 0,14 | 6,52 ^d | 0,12 |
| CoZZA | 6,33 ^c | 0,35 | 7,12 ^{d e} | 0,08 | 6,79 ^d | 0,96 |
| CoBc3 | 7,34 ^{d e} | 0,20 | 7,18 ^{e f} | 0,20 | 7,74 ^{c d} | 0,16 |
| CoBc6 | 7,17 ^{d e} | 0,46 | 6,70 ^{c d} | 0,08 | 7,61 ^c | 0,10 |
| CoBc3ZA | 7,20 ^{d e} | 0,29 | 7,35 ^{e f g} | 0,25 | 6,91 ^c | 0,35 |
| CoBc3Z | 7,62 ^e | 0,15 | 7,72 ^{e f g} | 0,20 | 6,59 ^{c d} | 0,17 |
| CoBc3ZZA | 7,53 ^{d e} | 0,01 | 7,50 ^g | 0,14 | 6,92 ^{c d} | 0,27 |
| CoBc6ZA | 7,40 ^{d e} | 0,18 | 7,10 ^{d e} | 0,24 | 7,00 ^c | 0,09 |
| CoBc6Z | 7,45 ^{d e} | * | 7,60 ^{f g} | 0,13 | 6,66 ^{c d} | 0,14 |
| CoBc6ZZA | 7,63 ^e | * | 7,76 ^g | 0,19 | 5,99 ^{c d} | 0,19 |

* No existió suficiente muestra

Cuadro 7: Evolución del contenido total disuelto de metales y metaloides en el agua de poro de los sustratos experimentales. Código de los tratamientos según el Cuadro 1.

| Código tratamiento | Metal disuelto | | | | | | | | |
|-----------------------|----------------|-------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|
| | Cu | | | Zn | | | As | | |
| | (mg/L) | | | (mg/L) | | | (ug/L) | | |
| | sem 1 | sem 3 | sem 14 | sem 1 | sem 3 | sem 14 | sem 1 | sem 3 | sem 14 |
| C+ | 0,93 | 0,65 | 0,36 | 2,72 | 1,93 | 0,78 | 13,81 | 8,83 | 12,14 |
| C- | 9,11 | 4,79 | 4,81 | 9,20 | 7,00 | 6,36 | 68,52 | 21,99 | 38,19 |
| Co | 3,21 | 1,27 | 0,81 | 2,24 | 0,51 | 0,10 | 45,29 | 22,44 | 71,32 |
| CoZA | 3,39 | 1,17 | 0,73 | 3,97 | 1,35 | 0,12 | 11,96 | 11,76 | 37,58 |
| CoZ | 8,02 | 4,35 | 6,91 | 1,14 | 0,36 | 0,31 | 155,80 | 95,96 | 275,90 |
| CoZZA | 5,07 | 2,39 | 1,37 | 2,38 | 0,41 | 0,33 | 31,35 | 25,05 | 102,10 |
| CoBc3 | 1,43 | 0,89 | 1,58 | 1,03 | 0,51 | 0,38 | 42,08 | 19,42 | 63,84 |
| CoBc6 | 0,94 | 1,69 | 1,82 | 0,72 | 0,91 | 0,89 | 44,83 | 51,95 | 95,94 |
| CoBc3ZA | 1,65 | 0,69 | 1,56 | 0,81 | 0,29 | 0,70 | 33,82 | 16,36 | 45,84 |
| CoBc3Z | 7,22 | 1,80 | 2,30 | 1,21 | 0,19 | 0,33 | 52,67 | 62,61 | 103,70 |
| CoBc3ZZA | 2,08 | 1,52 | 2,16 | 0,66 | 0,19 | 0,32 | 27,47 | 43,93 | 72,19 |
| CoBc6ZA | 2,02 | 1,80 | 2,24 | 0,50 | 0,45 | 0,88 | 38,01 | 40,51 | 70,46 |
| CoBc6Z | 2,89 | 2,41 | 1,98 | 0,61 | 0,37 | 0,35 | 83,86 | 146,60 | 109,00 |
| CoBc6ZZA | 1,65 | 1,12 | 2,17 | 0,75 | 0,23 | 0,41 | 29,28 | 50,34 | 77,78 |

Cuadro 8: Evolución de la actividad de Cu (pCu^{2+}) en el agua de poro de los sustratos experimentales. Se muestra el promedio (Prom) y la desviación estándar (DE). Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

| Código tratamiento | pCu^{2+} | | | | | |
|-----------------------|---------------------|------|---------------------|------|------------------------|------|
| | sem 1 | | sem 3 | | sem 14 | |
| | Prom | DE | Prom | DE | Prom | DE |
| C+ | 7,08 ^c | 0,66 | 6,50 ^b | 0,64 | 8,21 ^b | 0,32 |
| C- | 4,87 ^a | 0,11 | 5,35 ^a | 0,10 | 6,49 ^a | 0,19 |
| Co | 6,41 ^c | 0,49 | 7,21 ^{b c} | 0,66 | 9,64 ^{c d} | 1,76 |
| CoZA | 5,67 ^b | 0,30 | 7,35 ^{b c} | 0,63 | 9,76 ^d | 0,31 |
| CoZ | 8,82 ^{d e} | 0,47 | 9,73 ^{f g} | 0,27 | 9,35 ^e | 0,40 |
| CoZZA | 8,20 ^d | 0,37 | 10,04 ^g | 0,23 | 9,86 ^e | 0,84 |
| CoBc3 | 9,21 ^e | 0,35 | 8,34 ^{d e} | 0,28 | 11,16 ^d | 0,12 |
| CoBc6 | 8,83 ^{d e} | 0,32 | 7,81 ^{c d} | 0,23 | 11,15 ^{b c d} | 0,32 |
| CoBc3ZA | 8,60 ^{d e} | 0,33 | 8,86 ^{e f} | 0,18 | 10,15 ^{b c} | 1,36 |
| CoBc3Z | 10,31 ^f | 0,26 | 9,79 ^{f g} | 0,26 | 9,61 ^{d e} | 0,26 |
| CoBc3ZZA | 10,37 ^f | 0,41 | 9,79 ^{f g} | 0,37 | 10,37 ^{d e} | 0,38 |
| CoBc6ZA | 9,26 ^e | 0,21 | 8,65 ^{d e} | 0,28 | 10,21 ^{c d} | 0,72 |
| CoBc6Z | 10,22 ^f | 0,05 | 9,70 ^{f g} | 0,23 | 8,86 ^{d e} | 0,26 |
| CoBc6ZZA | 10,60 ^f | 0,28 | 10,07 ^g | 0,38 | 8,33 ^{d e} | 0,60 |

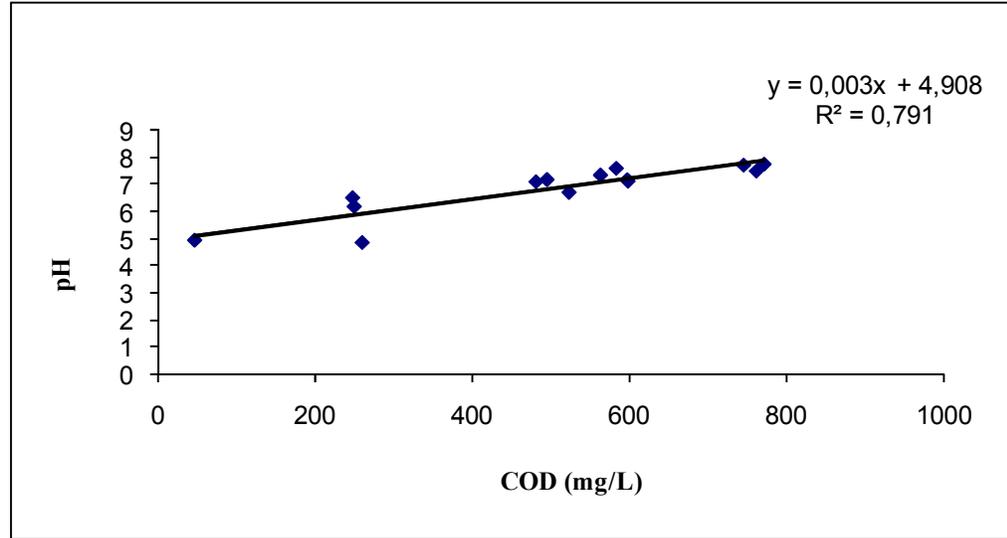


Figura 2: Relación entre Carbono orgánico disuelto (COD) y pH en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente.

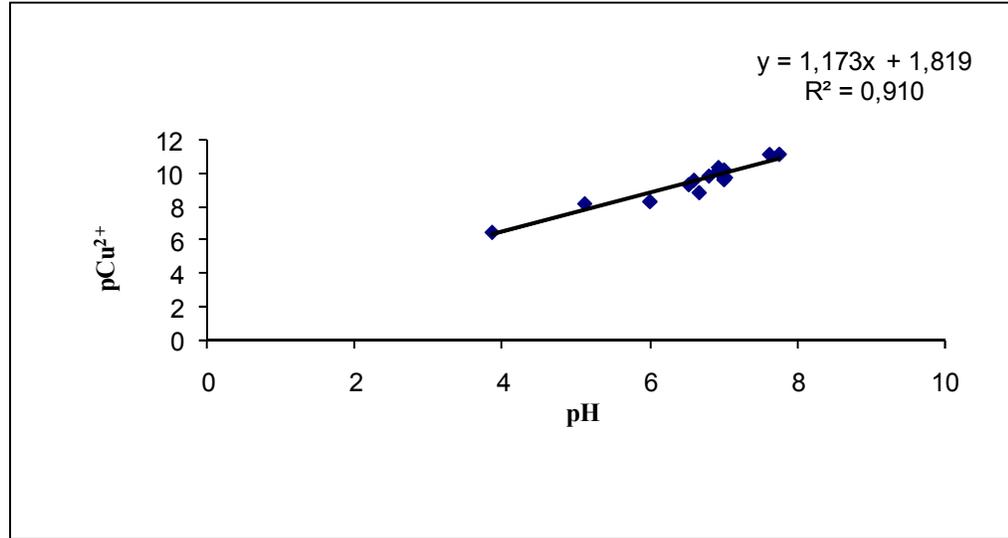


Figura 3a: Relación entre el pH y la actividad del Cu iónico o pCu²⁺ en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente.

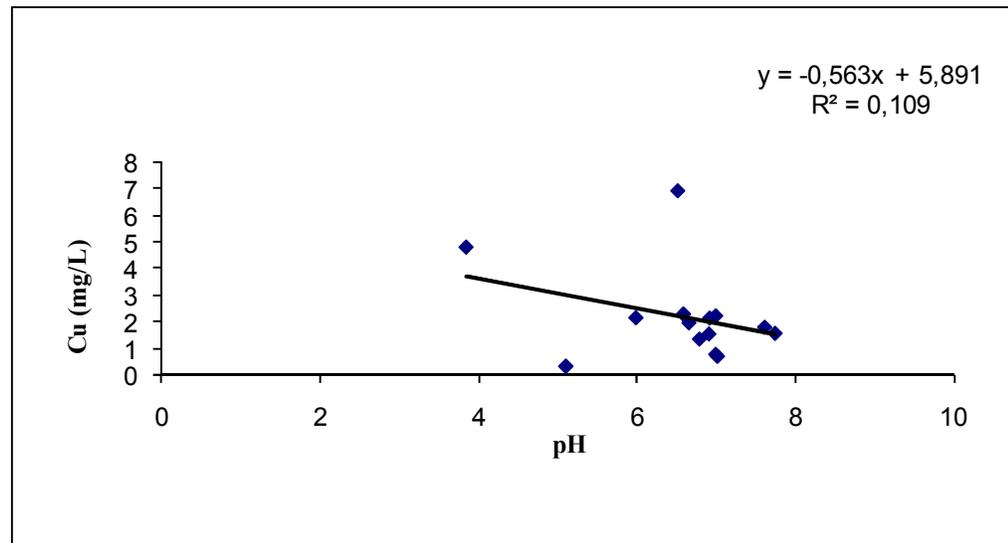


Figura 3b: Relación entre el pH y el contenido de Cu total disuelto en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente.

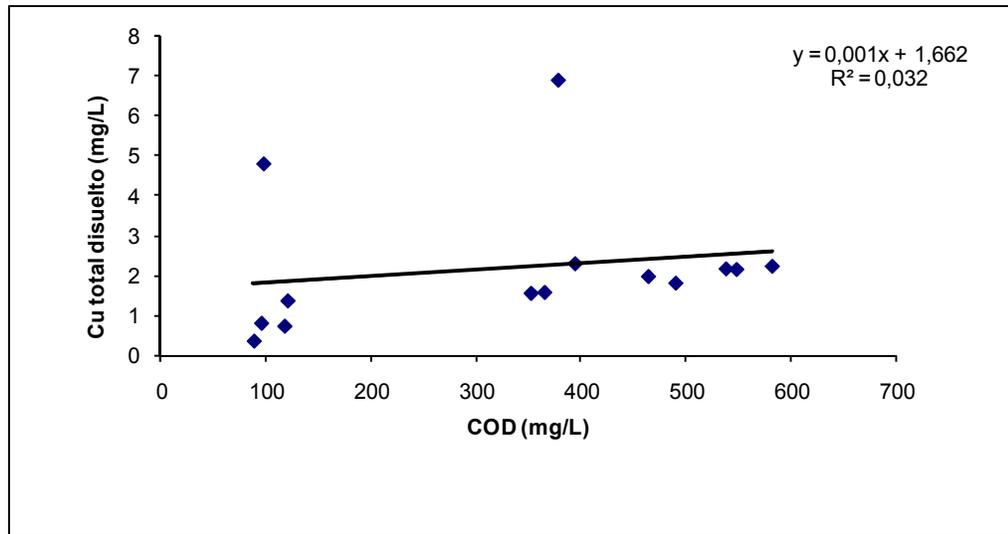


Figura 4a: Relación entre el COD y el contenido de Cu total disuelto en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente.

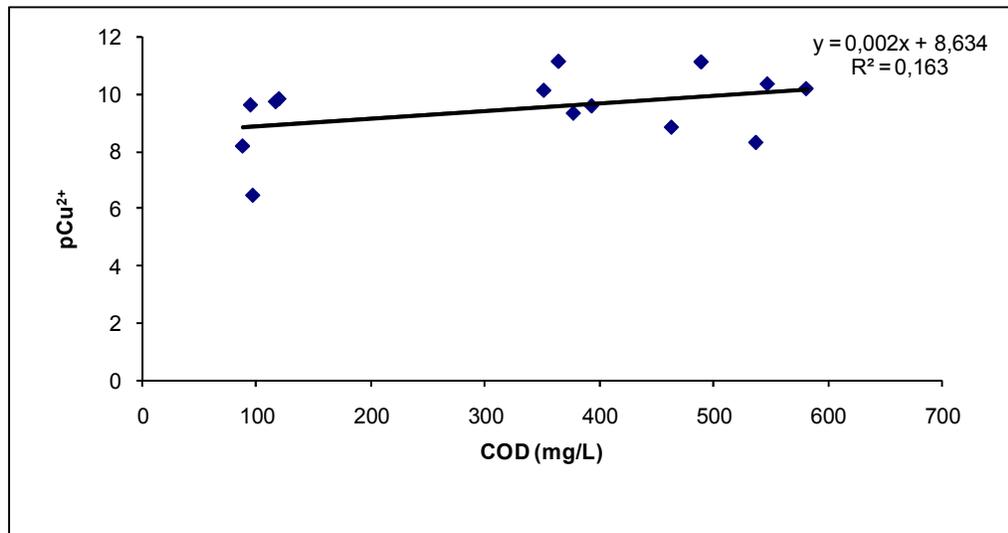


Figura 4b: Relación entre el COD y la actividad de Cu iónico o pCu^{2+} en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente.

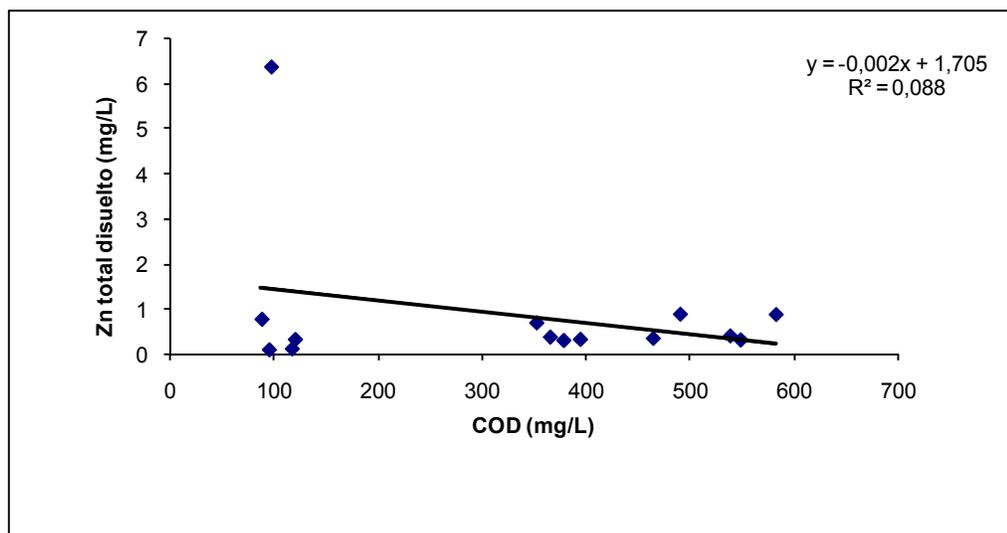


Figura 5: Relación entre el COD y el Zn total disuelto en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente.

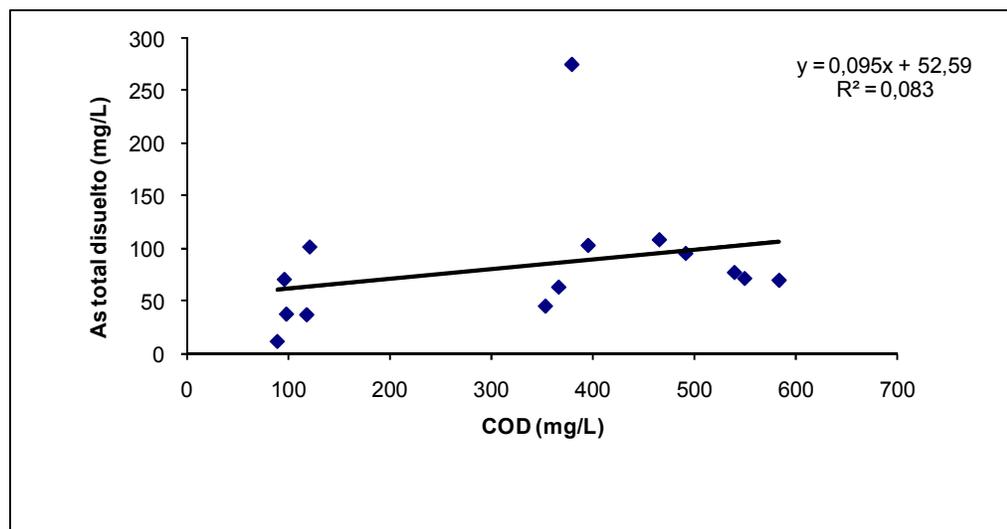


Figura 6: Relación entre el COD y As total disuelto en el agua de poro de los sustratos experimentales, para los valores obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente.

4.2 Efecto de los acondicionadores en el crecimiento y la acumulación de metales y As en *Lolium perenne* L. (Ballica perenne)

Los distintos tratamientos experimentales resultaron en diferencias significativas tanto en la biomasa aérea (vástagos) ($F= 17,25$, g.l.= 41, $p< 0,0001$) como en la cobertura radical ($F= 37,73$, g.l.= 41, $p<0,0001$) de las plantas de *Lolium perenne* (Figuras 7 a 10). Específicamente, se encontró un efecto negativo en la productividad de los vástagos de *L. perenne* al comparar el suelo control (-) con el control (+) (Figuras 8 y 9). Adicionalmente, la mezcla de cualquier dosis de biosólidos con zeolita pura o activada resultó en una productividad significativamente menor de los vástagos (Figura 8; ver Apéndice 5), no así aquellos tratamientos donde se adicionaron estas enmiendas sólo acompañadas de conchuela; específicamente, los tratamientos CoBc6ZZA, CoBc6Z, CoBc3ZZA y CoBc3Z presentaron biomasa aérea disminuidas incluso en relación al control (-). El resto de los tratamientos mostraron biomasa significativamente mayores que el control (-) y similares al control (+) (Figura 8). El tratamiento que alcanzó mayor biomasa aérea fue el tratamiento CoZ (Figuras 8 y 9), el que corresponde a una mezcla de conchuela con un 10% de Zeolita.

En relación a la cobertura radical, se obtuvo un patrón similar al de la biomasa aérea. Al igual que con la biomasa de los vástagos, se observó que al añadir conchuela como única enmienda, esto significó un cambio positivo y significativamente distinto respecto al control (-) (Ver Apéndice 6). Todos los tratamientos, con excepción de los tratamientos CoBc3Z, CoBc3ZZA, CoBc6Z y CoBc6ZZA, mostraron coberturas radicales significativamente mayores que el control (-) (Figura 10); nuevamente, la mezcla de biosólidos con zeolita tuvo un efecto negativo en la cobertura radical. Los tratamientos que presentaron mayor densidad radical fueron el CoZA, el CoZZA y el CoZ, que tienen la característica común de no poseer biosólidos en su mezcla (Figura 10). La adición de biosólido en una alta dosis, resultó en una reducción significativa en la cobertura radical (CoBc6 versus CoBc3) (Ver apéndice 6), aún cuando la cobertura radical se encuentra por sobre los valores del suelo control (+) (Figura 10).

En relación a lo anteriormente descrito, se encontró que los valores de conductividad eléctrica (CE) determinados en las aguas de poro (Ver cuadro 9) fueron significativamente superiores en todos aquellos tratamientos en los cuales se habían adicionado biosólidos en conjunto con zeolita pura o activada en comparación con el suelo control(-) tanto en la primera semana ($F= 41,82$, g.l.= 41, $p<0,0001$; ver apéndice 7) como en la tercera semana ($F= 71,66$, g.l.= 41, $P<0,0001$; ver apéndice 7). De esta forma, la interacción de ambas enmiendas resulta en un aumento de la CE y, por ende, en salinización de los suelos pues los valores de CE alcanzaron las categorías de suelos salinos a muy salinos ($CE > 4$). Aún cuando la presencia de la especie indicadora provocó una baja en este parámetro a partir del primer mes, las diferencias significativas de los tratamientos que contenían estas enmiendas se mantuvieron hacia la decimocuarta semana ($F= 59,07$, g.l.= 41, $p<0,0001$; ver apéndice 7) y la categoría de clasificación de salinidad del suelo siguió siendo la misma hacia el final del experimento. Esta característica salina del suelo puede tener cierta relación con el

detrimento tanto en la biomasa seca como en la cobertura radical presentada por la especie vegetal. Al respecto se encontró que los valores de COD (relacionados con las dosis adicionadas de biosólidos) están correlacionados con la conductividad eléctrica (CE) del agua de poro (Figura 11).



Figura 7: Vista general del ensayo experimental de cultivo de *Lolium perenne*, planta indicadora, en los distintos tratamientos experimentales de este estudio.

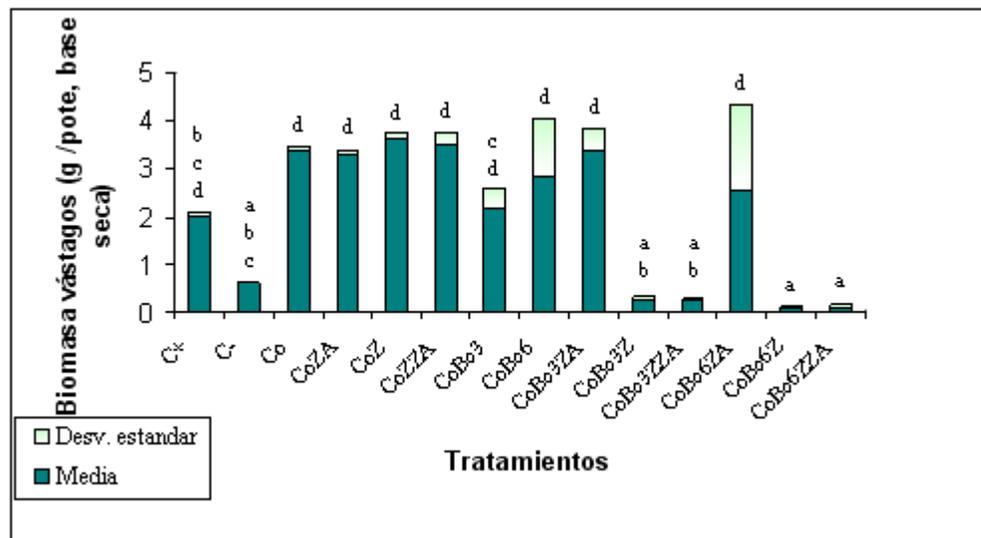


Figura 8: Biomasa seca de los vástagos de las plantas de *Lolium perenne* crecidas en los distintos sustratos experimentales obtenida al final del experimento. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas



Figura 9: Productividad aérea obtenida en algunas macetas experimentales al final del experimento; arriba izquierda Control (-); arriba derecha, Control (+); abajo izquierda, tratamiento CoZ (el de mayor biomasa aérea seca); abajo derecha, tratamiento CoBc6ZZA (El de menor biomasa seca).

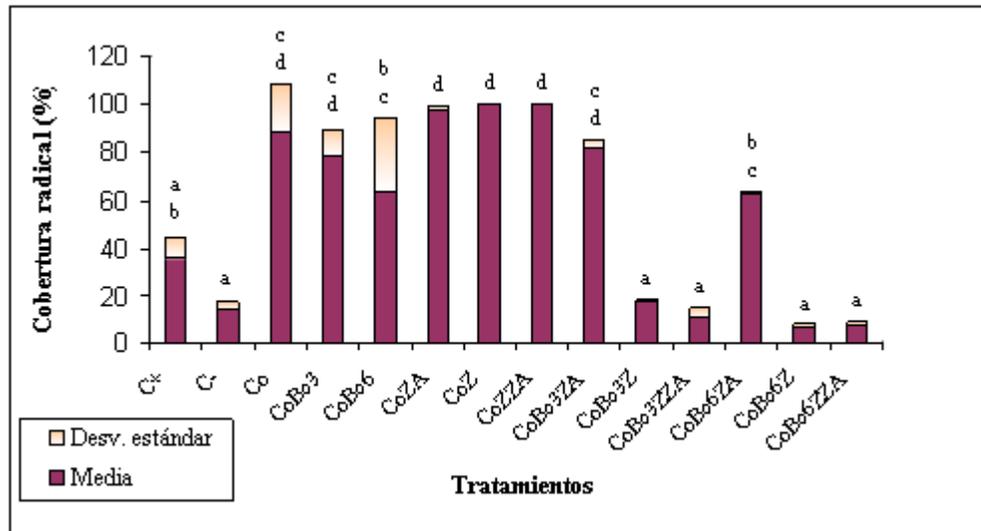


Figura 10: Cobertura radical de las plantas de *Lolium perenne* crecidas en los distintos sustratos experimentales obtenida al final del experimento. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Cuadro 9: Evolución de la conductividad eléctrica (CE) en el agua de poro de los sustratos experimentales. Se muestra el promedio (Prom) y la desviación estándar (DE). Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

| Código tratamiento | CE (mS/cm) | | | | | |
|-----------------------|---------------------|------|-------------------------|------|---------------------|------|
| | sem 1 | | sem 3 | | sem 14 | |
| | Prom | DE | Prom | DE | Prom | DE |
| C+ | 2,41 ^{a b} | 0,41 | 2,16 ^a | 0,38 | 0,68 ^a | 0,08 |
| C- | 1,71 ^a | 0,20 | 1,66 ^a | 0,28 | 1,17 ^a | 0,17 |
| Co | 1,30 ^a | 0,22 | 1,95 ^a | 0,22 | 0,19 ^a | 0,06 |
| CoZA | 5,86 ^{c d} | 0,33 | 7,49 ^{b c d e} | 0,01 | 3,48 ^{b c} | 1,11 |
| CoZ | 7,57 ^{d e} | 0,59 | 6,63 ^{b c} | 1,80 | 5,28 ^c | 0,85 |
| CoZZA | 1,62 ^a | 0,23 | 2,21 ^a | 0,18 | 0,44 ^a | 0,38 |
| CoBc3 | 9,14 ^{e f} | 2,38 | 8,09 ^{c d e} | 2,42 | 2,06 ^{a b} | 1,22 |
| CoBc6 | 11,55 ^f | 2,16 | 8,79 ^e | 2,21 | 0,62 ^a | 0,06 |
| CoBc3ZA | 4,60 ^{b c} | 0,92 | 5,89 ^b | 0,18 | 5,18 ^c | 1,84 |
| CoBc3Z | 8,14 ^{d e} | 1,10 | 8,07 ^{c d e} | 0,01 | 8,08 ^d | 0,30 |
| CoBc3ZZA | 8,76 ^c | 0,73 | 8,64 ^{d e} | 0,01 | 9,01 ^d | 0,30 |
| CoBc6ZA | 7,64 ^{d e} | 0,78 | 7,01 ^{b c d} | 1,20 | 4,71 ^c | 0,67 |
| CoBc6Z | 9,34 ^{e f} | 0,63 | 7,10 ^{b c d} | 0,41 | 8,48 ^d | 0,47 |
| CoBc6ZZA | 8,70 ^c | 0,36 | 7,16 ^{b c d e} | 0,24 | 9,32 ^d | 0,52 |

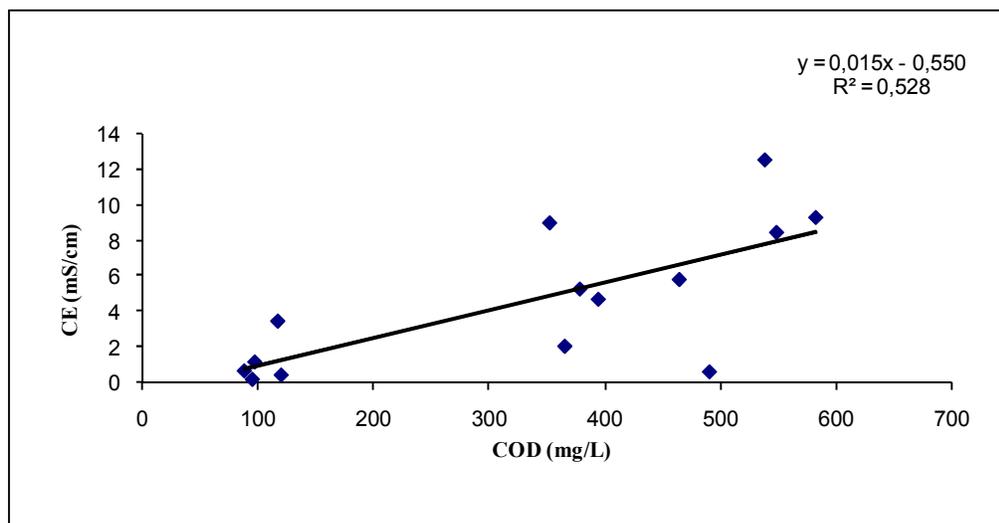


Figura 11: Relación entre Carbono orgánico disuelto (COD) y Conductividad eléctrica (CE) en el agua de poro de los sustratos experimentales obtenidos al final del experimento. Se muestra el coeficiente de correlación (R^2) entre ambos parámetros y el modelo matemático correspondiente.

En relación a la acumulación de metales (Cu, Zn y Fe) y de As en los vástagos de las plantas de *Lolium perenne* por maceta experimental (Cuadro 10), se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, para todos los elementos evaluados (Cu, $F= 20,67$, g.l.= 41, $p< 0,0001$; Zn, $F= 68,93$, g.l.= 41, $p< 0,0001$ y As, $F= 16,53$, g.l.= 41, $p< 0,0001$) (Cuadro 10). Específicamente, se observa que para todos los tratamientos se consiguió disminuir la acumulación de Cu por debajo del control (-) siendo los tratamientos más efectivos el CoZ, CoZA, Co, CoBc3, CoZZA y CoBc6, todos estadísticamente diferentes al control (-) e iguales al control (+) (Ver Apéndice 8); destacando que todos estos tratamientos tienen como característica común que no mezclan biosólidos con ningún tipo de zeolita.

En el caso del Zn, todos los tratamientos lograron acumulaciones menores de este elemento en los vástagos en relación al control (+) y estadísticamente distintas al control (-) (Ver Apéndice 9), siendo los tratamientos más efectivos el CoBc3Z, CoBc6ZZA CoBc6Z, y el CoBc3ZZA cuyas mezclas están compuestas de conchuela, biosólidos y zeolita.

Para el caso del Fe, se detectó una respuesta heterogénea entre los tratamientos; es así como los tratamientos CoBc6Z y al CoBc6ZZA mostraron acumulaciones de Fe superiores al control (-); sin embargo, las mismas enmiendas utilizadas por separado obtuvieron resultados opuestos y estadísticamente distintos (Ver Apéndice 10). Los tratamientos que resultaron más efectivos fueron los tratamiento CoBc6, CoZ y CoZA, que corresponden a mezclas de conchuela con 6% biosólidos, 1% zeolita activada y 10% zeolita, respectivamente, en donde se alcanzan niveles inferiores a los obtenidos en el control (+).

En lo que respecta a la acumulación de As en los vástagos se observó que con todos los tratamientos se obtuvo concentraciones por debajo del control (-), pero con ninguno se alcanzaron los niveles del control (+). Se consideran estadísticamente similares al control (-) los tratamientos Co, CoBc3ZZA, CoBc6Z y CoBc6ZZA (Ver Apéndice 11), la mayoría de los cuales tienen adición de biosólidos y zeolita. Los tratamientos que alcanzaron menores acumulaciones de As en los vástagos, además de ser estadísticamente similares al control (+) (Ver Apéndice 11), son CoBc6ZA, CoZZA y CoZ. Se puede observar que existe una tendencia en aquellos tratamientos donde se adicionó zeolita activada a presentar menores valores de este metaloide, lo que indica que esta última tienen una función relevante en lo que se refiere a controlar los niveles de As en los vástagos de la planta y que esta reacción se ve favorecida con la neutralización del suelo provocada por la conchuela también presente en ambos tratamientos. Sin embargo, cuando estas enmiendas son mezcladas con biosólidos la tendencia no es tan favorable, incluso se observa que la adición de biosólidos en los tratamientos en general significa un aumento en la acumulación de As en los vástagos de la ballica.

Cuadro 10: Acumulación de metales (Cu, Zn y Fe) y de As en los vástagos de *Lolium perenne* al final del experimento. Se muestra el promedio (Prom) y la desviación estándar (DE). Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

| Código tratamiento | Cu | | Zn | | Fe | | As | |
|-----------------------|------------------|--------|--------------------|--------|---------------------|--------|-------------------------|------|
| | mg/pote | | | | | | | |
| | Prom | DE | Prom | DE | Prom | DE | Prom | DE |
| C+ | 52 ^a | 3,79 | 398 ^c | 6,47 | 634 ^a | 31,43 | 1,80 ^a | 0,07 |
| C- | 460 ^b | 105,99 | 931 ^d | 113,02 | 2359 ^{b c} | 222,89 | 14,51 ^f | 2,15 |
| Co | 85 ^a | 1,48 | 346 ^{b c} | 58,65 | 676 ^a | 71,97 | 9,64 ^{c d e f} | 0,67 |
| CoZA | 89 ^a | 13,69 | 287 ^{b c} | 2,98 | 493 ^a | 232,44 | 5,24 ^{a b c} | 1,03 |
| CoZ | 90 ^a | 34,99 | 317 ^{b c} | 29,00 | 512 ^a | 425,80 | 4,05 ^{a b} | 1,62 |
| CoZZA | 71 ^a | 2,88 | 381 ^c | 18,95 | 668 ^a | 46,04 | 4,75 ^{a b c} | 0,20 |
| CoBc3 | 84 ^a | 5,55 | 278 ^{b c} | 16,20 | 792 ^a | 82,76 | 8,82 ^{b c d e} | 0,21 |
| CoBc6 | 70 ^a | 3,67 | 235 ^{a b} | 16,84 | 559 ^a | 67,36 | 6,26 ^{a b c} | 0,28 |
| CoBc3ZA | 101 ^a | 11,28 | 325 ^{b c} | 20,89 | 878 ^a | 162,19 | 5,17 ^{a b c} | 0,57 |
| CoBc3Z | 168 ^a | 15,41 | 107 ^a | 11,63 | 1182 ^{a b} | 596,42 | 6,86 ^{b c d} | 1,31 |
| CoBc3ZZA | 397 ^b | 84,58 | 125 ^a | 21,54 | 3179 ^c | 761,44 | 11,43 ^{d e f} | 2,35 |
| CoBc6ZA | 151 ^a | 108,36 | 277 ^{b c} | 81,91 | 1085 ^a | 953,79 | 5,15 ^{a b c} | 2,23 |
| CoBc6Z | 337 ^b | 33,20 | 124 ^a | 7,73 | 2798 ^c | 94,86 | 12,16 ^{e f} | 3,21 |
| CoBc6ZZA | 133 ^a | 54,47 | 113 ^a | 16,74 | 943 ^a | 382,70 | 14,18 ^f | 8,45 |

Por último, es importante destacar que se encontró una correlación negativa entre el pH medido en el agua de poro y la acumulación de Cu y Zn en los vástagos de la planta indicadora, con valores de R de 0,22 y 0,48, respectivamente. De esta forma, a mayor pH menores acumulaciones de ambos metales en los vástagos, lo que indicaría que la utilización de enmiendas neutralizadoras tendría una influencia positiva en la presencia de ambos metales en los vástagos.

4.3 Discusión general

El efecto inicial de las enmiendas sobre el pH del suelo puede ser explicado principalmente por la acción específica de la conchuela adicionada al suelo contaminado de estudio, la cual al agregar Ca y Mg al suelo, disminuye el porcentaje de saturación con iones Al y aumenta la saturación con bases, ocasionando un incremento del pH del suelo (Kamprath, 1967). Lo mismo ha sucedido en otros experimentos similares (i.e. Pérez, 1986), donde la aplicación de cantidades crecientes de conchuela han ocasionado un incremento en el valor del pH de los suelos estudiados a niveles considerados como neutros.

Así también se observó que este aumento de pH medido en el agua de poro se vio favorecido con la adición de biosólidos, los cuales benefician en forma leve el aumento de pH, independiente de su dosis, lo que resulta similar a lo demostrado por Cavaleri *et al.* (2004) y Ramírez *et al.* (2007), quienes reportaron un aumento en el pH con la aplicación de esta enmienda en experimentos similares al del presente estudio. En el estudio de Ramírez *et al.* (2007) se menciona que los efectos de la aplicación de biosólidos en el pH del suelo pueden ser variables y que dependen del pre-tratamiento tanto de los metales solubles presentes en el suelo como del tipo de biosólido aplicado; en el caso específico de los biosólidos de este estudio, dado que son lodos no estabilizados, puede ser que esta característica contribuya a estos resultados, considerando que la variación del pH puede deberse al desprendimiento de CO₂ y posterior conversión en H₂CO₃, a la mineralización del nitrógeno orgánico y su subsiguiente transformación en NO₃ y a la presencia de cationes básicos contenidos en los residuos orgánicos, entre otros (Abad, 1998). De igual manera, la zeolita influye en el cambio de pH mostrado en este estudio, lo que concuerda con otros estudios en donde se ha demostrado que la zeolita aumenta el pH por su naturaleza alcalina y la alta cantidad de cationes básicos retenidos por éste. (i.e. Phillips, 1998; Filcheva y Tsadilas, 2002).

Refiriéndonos a los niveles totales de todos los metales y del As se observó que no variaron de manera significativa al aplicar las enmiendas seleccionadas para el presente estudio, pero sí se presentó un efecto importante de dichas enmiendas sobre la solubilidad de estos elementos. Es así como la solubilidad de los metales y metaloides medidos en el agua de poro presentaron variaciones, incluso con la sola adición de conchuela como enmienda; en este caso, la disminución en la solubilización de estos elementos en el agua de poro se debería a que los niveles de pH alcanzados (cerca de 6,5, levemente ácidos) revierten la solubilidad, y por ende la fitotoxicidad, del Zn, Cu (esencialmente como Cu⁺²) y As, en correspondencia a lo indicado por la U.S. EPA (2007). Por el contrario, la basificación por sobre un pH de 7,0 obtenida por la acción adicional de zeolita y/o biosólidos al suelo de estudio neutralizado con conchuela, no fue eficaz en la reducción de la solubilización del As. Por todo lo anterior es que el parámetro pH resulta ser un factor clave en las concentraciones solubles de los metales y/o metaloides encontradas en los sustratos y explica fuertemente los niveles alcanzados de estos.

Es importante destacar respecto al contenido de Cu en el suelo que, según la literatura, las forma iónica de éste (Cu^{2+}), resulta un mejor predictor de la disponibilidad de este elemento para las plantas (Thakali *et al.*, 2006), siendo a menudo considerada como la mejor variable para predecir fitotoxicidad de Cu (Sauvé *et al.*, 1998), y por lo tanto es la más importante de considerar.

Por otro lado los estudios de Martínez y McBride (1999), Kiikkila (2003) y Ruttens *et al.* (2006) sugieren que la adición de materia orgánica a los suelos puede aumentar la cantidad de ligandos orgánicos solubles (por ejemplo, carbono orgánico disuelto o COD), los que forman complejos de baja solubilidad con muchos cationes metálicos como el Cu^{2+} . En este sentido es importante tener presente que este efecto pudiera significar un aumento en la movilidad del Cu y de otros cationes metálicos en las aguas de poro, aumentando su solubilización y, por ende, su disponibilidad para las plantas. Sin embargo, en este estudio no se detectó aumentos significativos en la solubilización de los metales en las aguas de poro con la adición de los biosólidos, incluso con las dosis de aplicación mayores. Esto pudo deberse a que aún cuando aumentara levemente la concentración soluble de metales en los suelos sometidos a biosólidos, este efecto se ve contrastado con el incremento en la capacidad de intercambio catiónico de los suelos provocado simultáneamente por esta enmienda, el cual aporta bases de intercambio como Na^+ , K^+ , Mg^{+2} y Ca^{+2} , que desplazan H^+ de los sitios de intercambio en el suelo, aumentando por lo tanto la saturación de bases (Aravena *et al.*, 2007) y ocasionando la creación de más sitios de intercambio en la fracción coloidal del suelo, los que se encuentran disponibles para una mayor adsorción y posible inmovilización de dichos metales (Silveira *et al.*, 2003). Todo lo anterior pudiera estar determinando que los biosólidos no aumentan ni disminuyen el contenido metálico en la solución del suelo.

Añadido a lo anterior, la zeolita que posee de igual manera una alta capacidad de intercambio catiónico (mayor a 100cmol kg^{-1}) contribuye a este proceso, además de adsorber selectivamente ciertos metales de interés como el Zn y el Cu (Blanchard *et al.*, 1984; Huang y Petrovic, 1994) haciendo que los niveles de estos metales vean favorecidas, levemente, sus bajas en este estudio. En este mismo sentido, Phillips (1998) demostró que la zeolita en dosis de 20% p/p reduce el Cu y el Zn intercambiable aproximadamente en un 50%, destacando que dosis de tan sólo un 5% de zeolita (la mitad de lo utilizado en este estudio), significaron la reducción de la disponibilidad de los metales a niveles sobre la base del test *Toxicity Characteristic Leaching Procedure*, TCLP (Environmental, Health & Safety Online, 2008). Así mismo, Mench *et al.* (1998) demostraron que una dosis entre 0,5 y 1% de distintos tipos de zeolita (dosis mucho menor a la utilizada en este estudio) significaban ya una reducción de la fitotoxicidad de metales, como el Cu en diversas especies de plantas incluido especies del género *Lolium*.

Específicamente, en relación a las concentraciones solubles de As, además de la influencia negativa que tuvo el aumento excesivo de pH (aumentando las concentraciones de este metaloide, como se mencionó anteriormente), se encontró que la utilización de zeolita activada con hierro tiende a ocasionar una reducción en las concentraciones solubles de este

metaloides contrarrestando el efecto anterior. Muchos autores mencionan que los óxidos de hierro resultan ser un tratamiento efectivo en la reducción del As en suelos contaminados, significando un decrecimiento en agua extraíble de este elemento en aproximadamente un 50%, ejemplo de ello son los estudios de Mench *et al.*, 1998 y Onyango *et al.*, 2003. Esta situación se atribuye al aumento de los sitios de adsorción específicos para este elemento en la superficie de la zeolita activada con hierro (Jeon *et al.*, 2009). Añadido a lo anterior, la zeolita activada no pierde la capacidad de disminuir el contenido soluble de metales como el Cu y el Zn, como propiedad intrínseca de las zeolitas.

Adicionalmente, los resultados de este estudio muestran que con la adición de biosólidos al suelo se presentan ciertos beneficios en las características físicas de éstos. Esto, según Cuevas *et al.* (2006), sería esperable pues, por la composición de los lodos sanitarios se espera que los efectos físicos sobre el suelo sean similares a los obtenidos con las aplicaciones de otros tipos de materiales orgánicos como el compost o la tierra de hoja, entre otros. Es así como se observaron beneficios positivos en la estructura del suelo, el contenido de materia orgánica, la capacidad de retención de la humedad, y la presencia de nutrientes en el suelo, como ha sido demostrado en diversos estudios experimentales (Wallace and Terry, 1998, Wright *et al.*, 1998; Stofella y Kahn, 2001).

Los beneficios de la aplicación de biosólidos al suelo de estudio pueden estar limitados, sin embargo, por la salinización del suelo y la excesiva carga de nutrientes que confieren, particularmente al ser agregados en dosis altas. En este estudio se encontraron niveles moderados a altos de nitrógeno disponible en aquellos sustratos donde habían sido añadidos biosólidos a dosificaciones altas, lo que pudiera ocasionar una lixiviación excesiva de nitrógeno en las aguas subterráneas del sector (Acevedo, 2004; Castro *et al.*, 2007; Cuevas *et al.*, 2006; Silveira *et al.*, 2003). Adicionalmente, la salinización de los suelos producida por la adición de biosólidos en este estudio podría limitar el establecimiento y el desarrollo adecuado de la vegetación, afectando la productividad vegetal (Abad, 1998; Acevedo, 2004; Celis *et al.*, 2006)

Evidencia de los cambios físicos y químicos del suelo tales como el aumento en el pH o la variación en el contenido metálico y metaloides del suelo, además de los efectos en las propiedades físicas del suelo se traducen notoriamente en la productividad vegetal y en la acumulación de metales y metaloides en los vástagos de *Lolium perenne* L. Se observó que con el aumento de los niveles de pH y la consiguiente neutralización del suelo conseguida con la utilización de la conchuela se presentaban efectos significativos y positivos tanto en la producción de biomasa aérea como en el porcentaje de cobertura radical. Al respecto, diversos autores han evidenciado que la deficiencia de calcio y magnesio es parcialmente responsable de un pobre crecimiento de las especies vegetales en la mayoría de los suelos ácidos con concentraciones elevadas de aluminio intercambiable (López, 1977; De Roza, 1971); así también, se ha demostrado que la acidez en los cultivos restringe el crecimiento y disminuye el volumen de las raíces, lo que conlleva a un sistema radical bastante limitado (Brenes y Pearson, 1973). Este efecto coincide con los resultados en este experimento al comparar el suelo control contaminado con todos los otros suelos neutralizados donde se

observa que la biomasa aérea es más de 3 veces mayor en aquellos suelos neutralizados, mientras que la cobertura radical es más de 5 veces mayor en aquellos suelos neutralizados; es más, la literatura menciona que en suelos ácidos con pH inferiores a 4,5 (límite aproximado presentado por los suelos control de estudio) y con contenidos tóxicos de aluminio, el añadir una enmienda calcítica (como la conchuela) podría incrementar en más de un 30% el peso de las raíces de los cultivos, como consecuencia de la neutralización del aluminio intercambiable (Pérez, 1986).

Así mismo, la adición de conchuela también asegura una utilización adecuada por parte de la planta no tan sólo de los nutrientes adicionados con la fertilización sino con aquellos que naturalmente se encuentran en el suelo (Mora *et al.*, 2002). En este sentido, muchos autores han encontrado relaciones entre el aumento del P, explicado por el aumento del pH y el aumento de la materia orgánica (en este caso dado por la adición de biosólidos), con el consiguiente descenso del Al intercambiable (Bartlett and Riego, 1972; Cameron *et al.*, 1986). En adición a lo anterior, también se ha demostrado que un aumento del pH debería conducir a un aumento en las poblaciones de los organismos propios del suelo (Murray *et al.*, 2006), con los beneficios que ello significa. Por otro lado, se observó que el uso de zeolita (o zeolita activada) en forma simultánea con la conchuela favoreció aún más la formación de biomasa aérea de la ballica. Al respecto, Mench *et al.* (1998) indican que la zeolita en presencia de algún fertilizante incrementa el crecimiento de las especies vegetales en más de un 50%. Esto se explica por que al ser altamente hidrofílica, la zeolita facilita la absorción de nutrientes por las plantas, ya que éstos son tomados por las raíces al estar disueltos en agua (Rehákova *et al.*, 2004). Contrariamente, se observa que la adición de biosólidos a la mezcla no presenta una reacción tan favorable en lo que se refiere a la producción de biomasa seca ni en la cobertura radical alcanzada por la ballica; experiencias similares ha tenido Celis *et al.* (2006) donde el biosólido significó un detrimento tanto en la germinación como en la elongación de la radícula de la especie testada, teniendo esto directa relación con la dosis utilizada, esto pudo deberse a la alta concentración de nutrientes (esencialmente nitrógeno disponible y fósforo) que aportaron los biosólidos y que pudo haber generado toxicidad; al respecto se evidencia en la bibliografía experiencias similares como por ejemplo el estudio realizado por Ramírez, *et al.*, 2007. También se encontró que la adición de biosólidos en conjunto con zeolita o zeolita activada significó en un aumento considerable en la salinidad del suelo, lo que podría explicar los efectos negativos de estas enmiendas utilizadas en conjunto tanto en la biomasa seca obtenida por la planta como en su sistema radical. Como indican numerosos autores, las plantas que crecen sobre suelos salinos tienen una apariencia caracterizada por un crecimiento muy pobre: los tallos alcanzan una menor altura, las hojas se reducen en número y presentan desecación en sus bordes además de un color amarillamiento característico y cierto grado de marchitez, añadido a esto también se presenta una disminución en la producción de frutos y semillas mientras que referente al sistema radicular, estas presentan una menor longitud de modo que el volumen de suelo que prospectan es menor (Bonnet, 1960; Maroto, 2008; Leidi y Pardo 2002). Incluso con los niveles alcanzados de CE en este estudio, utilizando las dosis más altas de biosólidos, sólo podrían cultivarse plantas muy resistentes o de tolerancia máxima (Zhu, 2001; Maroto, 2008; Leidi y Pardo, 2002).

Es necesario recalcar que con la neutralización de los suelos conseguida en este estudio también se consiguió una disminución en la acumulación de Cu, Zn y Fe en los vástagos de *Lolium perenne* en comparación a las plantas crecidas en el suelo control. Esta respuesta probablemente se explica por los efectos de esta enmienda en el equilibrio entre la especiación metálica, la solubilidad, la adsorción y el intercambio de iones en el suelo (McBride *et al.*, 1997; Kabata-Pendias and Pendias, 2000), siendo según McBride *et al.* (1997) el pH el factor más importante en afectar la biodisponibilidad de este tipo de metales. Alloway (1995) explica que esta baja se produce debido a que al aumentar el pH los metales son removidos de la solución del suelo y son adsorbidos por los coloides del suelo. Adicionalmente, la nutrición de calcio, en este caso proveniente de la conchuela, es importante para la integridad de la membrana celular y evita fugas de K de las células y promueve la homeostasis y la desintoxicación en el estrés oxidativo (Bes and Mench, 2008).

Así mismo, es importante destacar que cuando existió una mayor movilidad de los metales o metaloides en el suelo se tuvo como consecuencia una disminución en la biomasa aérea, además de un detrimento en el sistema radical; estos hechos son ampliamente reconocidos en la literatura, donde se menciona que dadas las propiedades atómicas y la reactividad química en disolución de metales ionizados como Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} y Fe^{3+} , estos son capaces de formar complejos estables con los elementos que contienen ligandos de oxígeno (O^-), nitrógeno (N^-), o azufre (S^-) (Nieboer y Richardson, 1980). Estos iones también pueden formar en agua cationes organometálicos, que por su elevada liposolubilidad, pueden cruzar fácilmente las membranas biológicas y ejercer sus efectos tóxicos al ingresar a los tejidos de las plantas (Nieboer y Richardson, 1980).

Adicionalmente, los biosólidos cuando no fueron combinados con Zeolita o Zeolita activada también tendieron a ocasionar mayores disminuciones en las acumulaciones de estos metales (Cu, Zn y Fe), lo que puede deberse al contenido de materia orgánica que estos presentan, ya que los grupos funcionales de la materia orgánica tienen alta afinidad por los iones metálicos, pudiendo formar complejos órgano-metálicos (Kabata-Pendias and Pendias, 2000). Por ejemplo, los grupos carboxilatos (COO^-) de la materia orgánica forman complejos estables con los metales, lo que sucede especialmente en ambientes neutros a alcalinos, como los obtenidos en este estudio luego de la aplicación de conchuela y biosólidos, donde la afinidad es mayor (González, 1993).

De igual manera, el uso de zeolitas cuando no estaba mezclada con Biosólidos, en los suelos de este estudio significó disminuciones en la acumulación de metales en los vástagos de la planta indicadora, lo que se explicaría por el aumento en la capacidad de intercambio catiónico que esta enmienda produjo en el suelo, haciendo que los metales permanezcan por más tiempo en el suelo, disminuyendo así su solubilidad y biodisponibilidad para las plantas (Kabata-Pendias y Pendias, 2000).

Sin embargo, el utilizar biosólidos en conjunto con Zeolita no resultó favorable en lo que se refiere a disminuir la acumulación de metales (Cu, Zn y Fe) en los vástagos de la planta

indicadora esto pudo deberse a que ambas enmiendas son responsables de un aumento excesivo de la salinidad del suelo como ya había sido mencionado, esta característica pudo haber incrementado la movilización de metales por dos mecanismos. En primer lugar, los cationes asociados con las sales (Sodio y potasio) pudieron reemplazar a metales en lugares de adsorción, o bien en segundo lugar los aniones cloruro pudieron haber formado complejos solubles estables con los metales (Domenech, 1995). Este hecho fue demostrado por Calmano *et. al.* (1993) ratificando esta influencia.

Otro aspecto importante de considerar es el comportamiento disímil del As frente a las mismas enmiendas. La zeolita activada con hierro juega un rol importante en la solubilización y, por ende, en la biodisponibilidad y acumulación de este metaloide en la planta indicadora. Debido a las propiedades intrínsecas de este aluminosilicato y del Fe se consigue adsorber el As en forma específica, reduciendo directamente su biodisponibilidad. Específicamente, la zeolita posee dentro de su estructura sitios de intercambio catiónico dado por la sustitución de Al^{+3} por Si^{+4} (Mench *et al.*, 1998), lo que en conjunto con la capacidad de adsorción de As del Fe (Kinniburgh *et al.*, 1975; Onyango *et al.*, 2003), permitiría la obtención de los resultados mencionados. Por otro lado la utilización de biosólidos en conjunto, presenta una tendencia no favorable, probablemente por el aumento producido por estos en las concentraciones solubles de este metaloide como fue explicado anteriormente, añadido a ello Ascar *et. al* (2008) en su estudio acerca de la incorporación de biosólidos a suelos de Chile central indica que la adición de esta enmienda podría reflejar un aumento de As debido a una mayor actividad biológica causada por el aumento del contenido de materia orgánica en el sistema aun cuando en el mismo estudio se señala que este As es principalmente del tipo inorgánico y por lo tanto es menos tóxico.

Aún cuando las enmiendas y las tasas utilizadas en este estudio fueron elegidos por su gran valor de remediación, viabilidad económica y su potencial de aplicación *in situ*, resulta también relevante evaluar la factibilidad de su uso, la disponibilidad, el transporte y su almacenamiento, entre otros tópicos, además de contemplar la aceptación del público y el costo-beneficio de su aplicación (U.S. EPA, 2007). Aunque estos parámetros no fueron evaluados ni considerados en este estudio preliminar de laboratorio, son consideraciones muy importantes para la ampliación de estos resultados a aplicaciones de campo.

5 CONCLUSIONES

La conchuela es una enmienda efectiva para la neutralización de los suelos ácidos del Valle del Puchuncaví, permitiendo alcanzar niveles óptimos de pH según las características de la contaminación de estos suelos (metales y As en forma simultánea) y las sugerencias de la EPA de EE.UU. Esto se vio reflejado tanto en el contenido de estos metales/metaloides en la solución del suelo como en los vástagos de la planta indicadora, además de la adecuada productividad alcanzada por la Ballica tanto en la biomasa aérea como en la cobertura radical. Este resultado se consigue en el corto plazo, no requiere de un periodo de acción y es permanente en el tiempo.

La utilización de zeolitas y/o biosólidos en conjunto con conchuela resulta en un aumento excesivo del pH, ocasionando un aumento en el contenido total disuelto de As y por lo tanto mayor movilidad de este metaloide en el suelo. Esto se traduce en un aumento en el contenido de este metaloide en los vástagos de la planta indicadora, debiendo tener el As un tratamiento extra y específico.

La Zeolita activada fue efectiva en disminuir el contenido total disuelto de As, lo que también se vio reflejado en el contenido de As en los vástagos de la planta indicadora, requiriendo esta enmienda un tiempo de por lo menos un mes para alcanzar sus efectos. Así también, la utilización de esta enmienda favorece la productividad aérea de Ballica y la cobertura radical alcanzada, probablemente por la propiedad intrínseca de las zeolitas como intercambiador de nutrientes entre el suelo y la planta.

La utilización de biosólidos no significó aumentos ni disminuciones significativas en la solubilización de los metales/metaloides Cu, Zn y As, incluso con las dosis de aplicación mayores, sin embargo cuando estos son combinados con Zeolita se produce salinización del suelo, lo que limita el establecimiento y desarrollo adecuado de la planta indicadora, afectando su productividad aérea

Se recomienda la utilización de un tratamiento que contenga en su mezcla Conchuela en conjunto con Zeolita activada, ya que con esta mezcla se obtienen los resultados más óptimos tanto en los niveles de pH alcanzados como en el contenido disuelto de metales y As en la solución del suelo y en los tejidos vegetales aéreos de la planta indicadora.

6 BIBLIOGRAFÍA

Abad, M. 1998. Aprovechamiento del compost de residuos sólidos urbanos en agricultura. pp. 53-66. In: Orozco, F. y Osorio, W. (eds.) Residuos orgánicos, aprovechamiento agrícola como abono y sustrato. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Medellín. 151 p.

Acevedo, E. 2004. Valorización de Lodos Provenientes de Tratamiento de Aguas Servidas como Mejorador de Suelos Degradados. Universidad de Chile y Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 33p.

Adriano, D.C. 2001. Trace Elements in Terrestrial Environment; Biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. University of Georgia, United States. 867p.

Alfaro, L. A. 1988. Cambios de Uso del suelo agrícola por efecto de la contaminación ambiental. Caso de estudio: Comuna de Puchuncaví. Memoria Instituto de Geografía, Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Historia, Geografía y Ciencia Política. 134p.

Alloway, B. 1995. Heavy Metals in soils. Blackie Academic and Profesional. England. 350 p.

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

Arienzo, M., Adamo, P. y Cozzolino, V. 2004. The potential of *Lolium perenne* for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site. Science of The Total Environment 319: 13-25.

Ascar, L., Ahumada, I. y Richter, P. 2008. Effect of biosolid incorporation on arsenic distribution in Mollisol soils in central Chile. Chemosphere. 70(7): 1211-1217.

Bartlett, R. and Riego, D. 1972. Effect of chelation on the toxicity of aluminium. Plant and Soil. 37: 419-423.

Bes, C. and Mench, M. 2008. Remediation of copper-contaminated topsoils from a wood treatment facility using in situ stabilization. Environmental Pollution 156: 1128-1138.

Blanchard, G., Maunaye, M., and Martin, G. 1984. Removal of heavy metals from waters by means of natural zeolites. Water Research. 18: 1501-1507.

- Brenes, E. and Pearson, R. 1973. Root response of three gramineae species to soil acidity in an Oxisol and an Ultisol. *Soil Science*. 116: 295-302.
- Bonnet, J. 1960. *Edafología de los suelos salinos y sódicos*. Río Piedras, Puerto Rico. 337 p.
- Bonnin, D. 2000. Method of Removing Arsenic Species from an Aqueous Medium using modified zeolite minerals. United States patent. 10p.
- Calmano, W., Hong, J., and Förstner, U. 1993. Binding and mobilization of heavy metals in contaminated sediment affected by pH and redox potencial. *Water Science Technology*. 28(8): 223-235.
- Castro, C., Henríquez, O. and Freres, R. 2007. Posibilidades de aplicación de lodos o biosólidos a los suelos del sector norte de la Región Metropolitana de Santiago. *Revista de geografía Norte Grande* 37: 35-45.
- Cameron, R. Ritchie, G. and Robson, A. 1986. Relative Toxicities of Inorganic Aluminium Complexes to Barley. *Soil Science Society of America*. 50 :1231-36.
- Cavaleri, M., Gilmore, D., Mozaffari, M., Rosen, C. and Halbach, T. 2004. Hybrid poplar and forest soil response to municipal and industrial by- products: a greenhouse study. *Journal of Environmental Quality*. 33(3): 1055-1061.
- Celis, J., Sandoval, M., Zagal, E. y Briones, M. 2006. Efecto de la Adición de Biosólidos Urbanos y de Salmonicultura sobre la Germinación de Semillas de Lechuga (*Lactuca sativa* L.) en un suelo Patagónico *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*. 6(3): 13-25.
- Chile-Ambiente. 2002. Diagnóstico Ambiental Planes Reguladores Intercomunales V Región: Informe I Etapa I Diagnóstico Ambiental (Extracto). Chile. 66p.
- Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA). 2005. Informe de Evaluación Plan de Descontaminación Complejo Industrial Las Ventanas 1993-2004. Chile. 32p.
- Cuevas, J., Seguel, O., Ellies, A. y Dörner, J. 2006. Efectos de las Enmiendas Orgánicas sobre las Propiedades del Suelo con especial referencia a la Adición de Lodos Urbanos. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*. 6 (2):1- 12.
- Davies, B. 1992. Interrelationships between soil properties and the uptake of cadmium, copper, lead, and zinc from contaminated soils by radish (*Raphanus sativus* L.). *Water Air and Soil Pollution* 63: 331-342.

- De Rozo, E. 1971. Encalamiento en suelos de zonas cálidas y húmedas de Colombia. Bogotá, Colombia. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. Acidez y encalamiento en el trópico. 3(1):190 -205.
- Domenech, X. 1995. Química del suelo: El impacto de los Contaminantes. Ediciones Miraguano. España. 190 pp.
- Dudka, S; Piotrowska, M y Terelak, H. 1996. Transfer of cadmium, lead, and zinc from industrially contaminated soil to crop plants: a field study. *Environmental Pollution* .94(2) 181-188.
- Environmental Resources Management. 1993. Environmental Project-Ventanas Region, Chile: Volume I. Final report. Environmental Resources Management. England.
- Environmental, Health & Safety Online. 2008. [en línea]. The EPA TCLP: Toxicity Characteristic Leaching Procedure and Characteristic Wastes (D-codes). Disponible en el WWW : <http://www.ehso.com/cssepa/TCLP.htm>. Citado : 22 diciembre 2009.
- Ficheva, E. and Tsadilas, C. 2002. Influence of Clinoptilolite and compost on soil properties. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 33(3): 595-607.
- Ginocchio, R. 2000. Effects of a copper smelter on a grassland community in the Puchuncaví Valley, Chile. *Chemosphere* 41:15-23.
- Ginocchio, R., Carvallo, G. Toro, I. Bustamante, E. Silva, Y. and Sepúlveda, N. 2004. Micro-spatial variation of soil metal pollution and plant recruitment near a copper smelter in Central Chile. *Environmental Pollution*. 127(3): 343-352.
- González, S. y Bergqvist, E. 1986. Evidencias de contaminación con metales pesados del área vecina a una fundición de cobre. *Catemu. V región. Agricultura Técnica* 44(3): 63-68.
- González, S. 1992. Riesgo ambiental para los suelos de Chile. *IPA La platina* 70:44-50.
- González, S. and Ite, R. 1992. Acumulación metálica en suelos del área bajo influencia de las chimeneas industriales de Ventanas (provincia de Valparaíso, V Región). *Agricultura Técnica* 50: 214-219.
- González, M. 1993. Reducción de la toxicidad del Cu y Cd en alfalfa mediante el uso de abonos orgánicos. *Agricultura Técnica*. 57: 245-249.
- González, S. 2000. Contaminación de suelos: Los metales pesados. pp. 42-59 En Simposio Proyecto Ley de Protección del Suelo. Boletín N° 14. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo; Comisión Nacional del Medio Ambiente. 222 p.

González, S. 2005. [En línea]. Estado de la Contaminación de los Suelos en Chile. Disponible en el WWW: <http://www.um.es/gtiweb/adrico/medioambiente/sueloschile.htm> Citado: 25 de Noviembre de 2008.

Huang, Z. y Petrovic, A. 1994. Clinoptilolite zeolite influence on nitrate leaching and nitrogen use efficiency in simulated sand based golf greens. *Journal of Environmental Quality*. 23: 1190– 1194.

Jeón, C., Baek, K., Park, J., Oh, Y. and Lee, S. 2009. Adsorption characteristics of As (V) on iron-coated zeolite. *Journal of Hazardous Materials*. 163: 804-808.

Jones, J. and Case, V. 1990. Sampling, Handling, and Analyzing Plant tissue Samples. pp. 389-429. In: Westerman, R. (Ed.). *Soil Testing and Plant Analysis*. Soil Science Society of America. United States. 784p.

Kabata-Pendias, A. and Pendias, H. 2000. *Trace elements in soils and plants* CRC. Press, United States. 413 p.

Kamprath, E. 1967. Acidez del suelo y su respuesta al encalado. s. n. t. United States. *Boletín de Proyecto Internacional de Análisis de Suelos* No. 4. 22 p.

Kinniburgh, D., Syers, J. and Jackson, M. 1975. Specific Adsorption of Trace Amounts of Calcio and Strontium by Hydrous Oxides of Iron and Aluminium. *Soil Science Society of America journal*. 39: 464-470.

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

Klute, A. 1986. *Methods of soil analysis. Physical and mineralogical methods*. VI. American Society of Agronomy, Winsconsin. United States. 1159p

Kozlov, M., Haukioja, E., Bakhtiarov, A. and Stroganov, D. 1995. Heavy metals in birch leaves around a nickel-copper smelter at Monchegorsk, northwestern Russia. *Environmental Pollution* 90: 291-299.

Lagos G. e Ibáñez, R. 1993. *Recopilación y Análisis de Estudio Sobre Contaminación e Impacto ambiental en la comuna de Puchuncaví. Estudio de Línea base. Proyecto Ambiental Ventanas, Ministerio de Minería. Chile*. 315p.

Leidi, E. y Pardo, J. 2002. Tolerancia de los cultivos al estrés salino: Qué hay de nuevo. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias*. (2): 69-90.

Leggo P., Ledésert B. and Graham, C. 2006. The role of clinoptilolite in organo-zeolitic-soil systems used for phytoremediation. *Science of the Total Environment* 363: 1-10.

- López, I. 1977. Evaluación biológica de métodos químicos para requerimientos de cal en suelos ácidos de Venezuela. *Agronomía Tropical* 27(4):393-411.
- Luzio, W. 2000. Historia del Suelo en Chile. pp. 11-20 En Simposio Proyecto Ley de Protección del Suelo. Boletín N° 14. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo; Comisión Nacional del Medio Ambiente. 222 p.
- Maroto, J. 2008. Elementos de Horticultura General. Ediciones Mundi-Prensa, España. 481p.
- Martínez, C. and McBride, M. 1999. Dissolved and labile concentrations of Cd, Cu, Pb, and Zn in aged ferrihydrite-organic matter systems. *Environmental Science & Technology* 33 (5): 745–750.
- McBride, M. 1989. Reactions controlling heavy metal solubility in soils. *Advanced. Soil Science*. 10: 1– 56.
- McBride, M. 1994. *Environmental Chemistry of soils*. Oxford University Press, United States. 406 pp.
- McBride, M., Sauve, S. and Hendershot, W. 1997. Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. *European Journal of Soil Science*. 48: 337-346.
- Mench, M., Vangrosveld, J., Lepp, N. and Edwards, R. 1998. Physico-Chemical Aspects and Efficiency of Trace Element Immobilization by Soil Amendments. pp. 151-182 In: Vangrosveld, J. and S. Cunningham (eds.) *Metal-Contaminated Soils: in Situ Inactivation and Phytoremediation*. Springer-Verlag, Berlin and R.G. Landes Company, Georgetown, TX.
- Ming, D. and Mumpton, F. 1989. Zeolites in soils. pp. 873–911. In: Dixon, J. and Weed, S. (eds.) *Minerals in Soil Environments*, American Society of Agronomy. United States. 1244p.
- Moirou, A., Xenidis, A. y Paspaliaris, I. 2001. Stabilization Pb, Zn, and Cd Contaminated Soil By Means of Natural Zeolite. *Soil and Sediment Contamination*. 10(3):251-267.
- Mora, L., Cartes, P., Demanet, R. and Cornforth, I. 2002. Effects of lime and gypsum on pasture growth and composition on an acid Andisol in Chile, South America. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 33(13-14): 2069-2081.
- Murray, P., Cook, R., Currie, A. Dawson, L., Gange, A, Grayston, S. and Treonis, A. 2006. Interactions between fertilizer addition, plants and the soil environment: Implications for soil faunal structure and diversity. *Applied Soil Ecology* 33: 199–207.

- Nieboer, E. and Richardson, D. 1980. The replacement of the nondescript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environmental Pollution (Series B)* 1: 3-26.
- Nriagu, J. and Pacyna, M. 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature* 333: 134-139.
- Onyango, M., Kojima, Y., Matsuda, H. and Ochieng, A. 2003. Adsorption Kinetics of Arsenic Removal from Groundwater by Iron-Modified Zeolite. *Journal of Chemical Engineering of Japan* 36(12): 1516-1522.
- Oste, L. and Singh, B. 2001. In situ immobilization of metals in contaminated or naturally metal-rich soils. *Environmental Reviews* 9(2): 81-97.
- Pérez, R. 1986. Efectos del Encalado en la Neutralización del Aluminio Intercambiable Sobre el Crecimiento del Tomate (*Lycopersicon esculentum*). *Agronomía Tropical*. 36(1-3): 89-110
- Phillips, I. 1998. Use of Soil Amendments to Reduce Nitrogen, Phosphorus and Heavy Metal Availability. *Journal of Soil Contamination*. 7(2):191-212.
- Pozo, V. 1993. Determinación de unidades con deterioro ambiental. Caso de estudio: Bahía de Quintero. Memoria Instituto de Geografía, Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Historia, Geografía y Ciencia Política. Chile. 95p.
- Quintanilla, V. 1983. Biogeografía. Colección Geografía de Chile. Tomo III. Instituto Geográfico Militar. Santiago, Chile. 2332 p.
- Rachou, J., Gagnon, C. and Sauvé, S. 2007. Use of an ion-selective electrode for free copper measurements in low salinity and low ionic strength matrices. *Environmental Chemistry* 4: 90-97.
- Ramírez, R., Velásquez, D. y Acosta, E. 2007. Efecto de la aplicación de biosólidos en el crecimiento de *Jacaranda mimosifolia* (Gualanday) y en las condiciones físicas y químicas de un suelo degradado. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. 60(1): 3751-3770.
- Reaman, A., Reyes, L., Trolard, F., Bourrié, G. and Sauvé, S. 2009. Copper mobility in contaminated soils of the Puchuncaví valley, central Chile. *Geoderma*. 150: 359-366.
- Rehákova, M., Cuvanová, S., Dživak, M., Rimár, J. and Gaval'ova, Z. 2004. Agricultural and agrochemical uses of natural zeolite of the clinoptilolite type. *Solid State and Materials Science* 8: 397-404.
- Römken, P., Bouwman, L. and Boon, G. 1999. Effect of plant growth on copper solubility and speciation in soil solution samples. *Environmental Pollution* 106(3): 315-321

- Ruttens, A., Mench, M., Colpaert, J., Boisson, J., Carleer, R. and Vangronsveld, J. 2006. Phytostabilization of a metal contaminated sandy soil. I: Influence of compost and/or inorganic metal immobilizing soil amendments on phytotoxicity and plant availability of metals. *Environmental Pollution* 144: 524-532.
- Rovira, A. 1984. Geografía de los Suelos. Colección Geografía de Chile. Tomo V Instituto Geográfico Militar. Santiago, Chile. 2332 p.
- Sadzawka A., Carrasco, M., Grez, R., Mora, M., Flores, H. and Neaman, A. 2006. Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chile. 164 p.
- Sadzawka A., Carrasco, M., Grez, R., Mora, M., Flores, H. and Neaman, A. 2007. Métodos de análisis de lodos y de suelos receptores de lodos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chile. 104 p.
- Salomon, W. 1995. Environmental impact of metals derived from mining activities: processes, predictions, prevention. *Journal of Geochemical Exploration*. 52: 5-23.
- Santibáñez, C., Ginocchio, R. y Brown, S. 2009. Fitoestabilización de Depósitos de Relaves en la Región de Coquimbo: Aplicación Sustentable de Acondicionadores. Centro de Investigación Minero y Metalúrgico (CIMM), Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Chile. 36p.
- Sauvé, S., McBride, M., Norvell, W. and Hendershot, W. 1997. Copper solubility and speciation of in situ contaminated soils: effects of copper level, pH and organic matter. *Water, Air and Soil Pollution* 100:133-149.
- Sauvé, S., A. Dumestre, M. McBride, and Hendershot, W. 1998. Derivation of soil quality criteria using predicted chemical speciation of Pb^{2+} and Cu^{2+} . *Environmental Toxicology Chemistry* 17:1481-1489.
- Shorrocks, V. and Alloway, B. 1986. Copper in plant, animal and human nutrition. Copper development Association, (Report TN 35). Orchard House. England. 107p.
- Silviera, M., Alleoni, L. and Guilherme, L. 2003. Biosolids and heavy metals in soils. *Scientia agricola*. 60(4): 793-806.
- Stofella, P. and B. Kahn. 2001. Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems. CRC Press, United States. 414 pp.

Stuckey JW, Neaman A, Ravella R, Komarneni S y Martínez, C. 2009. Highly charged swelling mica reduces Cu bioavailability in Cu-contaminated soils. *Environmental Pollution* 157: 12-16.

Thakaly, S., Allen, H., Di Toro, D., Ponizovsky, A., Rooney, C., Zhao, F. and McGrath, S. 2006. A terrestrial biotic ligand model 1. Development and application to Cu and Ni toxicities to barley root elongation in soils. *Environmental Science & Technology* 40: 7085-7093.

United States Department of Agriculture (USDA). 1996. Soil Survey Laboratory Methods Manual, Soil Survey Investigations Report N° 42, version 3.0, National Soil Survey Center, Natural Resources Conservation Service. United States. 693 p.

United States Department of Agriculture (USDA). 2004. Soil Survey Laboratory Methods Manual, Soil Survey Investigations Report N° 42, version 4.0. National Soil Survey Center, Natural Resources Conservation Service, United States Department of Agriculture. United States. 700 p.

United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA). 2002. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, 5th ed. United States Environmental Protection Agency (US EPA). United States. 266p.

United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA). 2007. The use of soil amendments for remediation, revitalization and reuse. Environmental Protection Agency, National Service Center for Environmental Publications United States. 52 p.

Villaseca, S. 1983. Acidez de las aguas lluvias en la Región Metropolitana y V Región. Tomo I: 144-150. III Simposio sobre contaminación ambiental, orientado al recurso agua, Región Metropolitana, Santiago, 5-7 octubre, 1983. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Chile. 245p.

Wallace, A. and Terry, R. (Eds). 1998. Handbook of Soil Conditioners. Substances that Enhance the Physical Properties of Soil. Marcel Dekker. United States. 596 pp.

Wong, M. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*. 6: 775-780.

Wright, R., Kemper, W., Millner, P., Power, J. and Korcak, R. 1998. Agricultural Uses of Municipal, Animal and Industrial Byproducts. United States. USDA-ARS Conservation Research Report #44. National Technical Information Service. 127 pp.

Zhu, J. 2001. Plant salt tolerance. *Trends Plant Science*. 6(2): 66-71

7 APÉNDICES

7.1 Apéndice I

Análisis estadístico de las diferencias entre tratamientos para el parámetro pH medido en agua de poro para el suelo de estudio

| Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,48121 | | | | |
|--|--------|---|---|-----|
| <i>Error: 0,0192 gl: 21</i> | | | | |
| tratamiento | Medias | n | | |
| C- | 4,63 | 3 | A | |
| C+ | 4,72 | 3 | A | |
| CoZA | 5,40 | 3 | B | |
| Co | 5,97 | 3 | | C |
| CoZZA | 6,33 | 3 | | C |
| CoZ | 6,99 | 3 | | D |
| CoBc6 | 7,20 | 3 | | D E |
| CoBc3ZA | 7,24 | 3 | | D E |
| CoBc3 | 7,34 | 2 | | D E |
| CoBc6ZA | 7,38 | 3 | | D E |
| CoBc6Z | 7,45 | 1 | | D E |
| CoBc3ZZA | 7,53 | 2 | | E |
| CoBc3Z | 7,62 | 2 | | E |
| CoBc6ZZA | 7,63 | 1 | | E |

Figura 12: Diferencias entre tratamientos para el parámetro pH medido en agua de poro en la semana 1. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,45884

Error: 0,0200 gl: 24

| tratamiento | Medias | n | | | | | | |
|-------------|--------|---|---|---|---|---|---|---|
| C- | 4,81 | 2 | A | | | | | |
| C+ | 4,89 | 3 | A | | | | | |
| CoZA | 6,17 | 3 | | B | | | | |
| Co | 6,48 | 3 | | B | C | | | |
| CoBc6 | 6,70 | 3 | | | C | D | | |
| CoBc6ZA | 7,10 | 3 | | | | D | E | |
| CoZZA | 7,12 | 3 | | | | D | E | |
| CoZ | 7,17 | 3 | | | | | E | F |
| CoBc3 | 7,18 | 2 | | | | | E | F |
| CoBc3ZA | 7,39 | 3 | | | | | E | F |
| CoBc3ZZA | 7,50 | 1 | | | | | E | F |
| CoBc6Z | 7,60 | 3 | | | | | | F |
| CoBc3Z | 7,65 | 3 | | | | | | G |
| CoBc6ZZA | 7,78 | 3 | | | | | | G |

Figura 13: Diferencias entre tratamientos para el parámetro pH medido en agua de poro en la semana 3. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,92218

Error: 0,0950 gl: 28

| tratamiento | Medias | n | | | | | | |
|-------------|--------|---|---|---|---|---|--|--|
| C- | 3,85 | 3 | A | | | | | |
| C+ | 5,11 | 3 | | B | | | | |
| CoBc6 | 6,52 | 3 | | | C | | | |
| CoBc6ZA | 6,59 | 3 | | | C | | | |
| CoBc3ZA | 6,62 | 3 | | | C | | | |
| CoZA | 6,83 | 3 | | | C | D | | |
| CoBc6Z | 6,91 | 3 | | | C | D | | |
| CoBc3ZZA | 6,91 | 3 | | | C | D | | |
| Co | 6,96 | 3 | | | C | D | | |
| CoBc6ZZA | 7,01 | 3 | | | C | D | | |
| CoBc3Z | 7,01 | 3 | | | C | D | | |
| CoBc3 | 7,02 | 3 | | | C | D | | |
| CoZZA | 7,60 | 3 | | | | D | | |
| CoZ | 7,75 | 3 | | | | D | | |

Figura 14: Diferencias entre tratamientos para el parámetro pH medido en agua de poro en la semana 14. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

7.2 Apéndice II

Análisis estadístico de las diferencias entre semanas por tratamiento para el parámetro pH medido en agua de poro para el suelo de estudio.

```

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,60401
Error: 0,0581 gl: 6
semana Medias n
-----
1          4,72  3  A
3          4,89  3  A
14         5,11  3  A

```

Figura 15: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento C+. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

```

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,31144
Error: 0,2128 gl: 5
semana Medias n
-----
14         3,85  3  A
1          4,63  3  A
3          4,81  2  A

```

Figura 16: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento C-. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

```

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,71121
Error: 0,0806 gl: 6
semana Medias n
-----
1          5,97  3  A
3          6,48  3  A  B
14         6,96  3  B

```

Figura 17: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento Co. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16543
 Error: 0,0025 gl: 4

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|-----|
| 14 | 7,02 | 3 | A |
| 3 | 7,18 | 2 | A B |
| 1 | 7,34 | 2 | B |

Figura 18: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,34792
 Error: 0,0193 gl: 6

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 14 | 6,52 | 3 | A |
| 3 | 6,70 | 3 | A |
| 1 | 7,20 | 3 | B |

Figura 19: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoZ. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,60648
 Error: 0,0586 gl: 6

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 1 | 5,40 | 3 | A |
| 3 | 6,17 | 3 | B |
| 14 | 6,83 | 3 | C |

Figura 20: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoZZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,39220
Error: 0,0245 gl: 6

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 1 | 6,99 | 3 | A |
| 3 | 7,17 | 3 | A |
| 14 | 7,75 | 3 | B |

Figura 21: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc3. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,29226
Error: 0,0136 gl: 6

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 1 | 6,33 | 3 | A |
| 3 | 7,12 | 3 | B |
| 14 | 7,60 | 3 | C |

Figura 22: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc6. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,69514
Error: 0,0770 gl: 6

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|-----|
| 14 | 6,62 | 3 | A |
| 1 | 7,24 | 3 | A B |
| 3 | 7,39 | 3 | B |

Figura 23: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc3ZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,37017
Error: 0,0170 gl: 5

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 14 | 7,01 | 3 | A |
| 1 | 7,62 | 2 | B |
| 3 | 7,65 | 3 | B |

Figura 24: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc3Z. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,06814
Error: 0,0594 gl: 3

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 14 | 6,91 | 3 | A |
| 3 | 7,50 | 1 | A |
| 1 | 7,53 | 2 | A |

Figura 25: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc3ZZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,42076
Error: 0,0282 gl: 6

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 14 | 6,59 | 3 | A |
| 3 | 7,10 | 3 | B |
| 1 | 7,38 | 3 | B |

Figura 26: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc6ZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,27700
Error: 0,0063 gl: 4

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 14 | 6,91 | 3 | A |
| 1 | 7,45 | 1 | B |
| 3 | 7,60 | 3 | B |

Figura 27: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc6Z. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,24915
Error: 0,0051 gl: 4

| semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 14 | 7,01 | 3 | A |
| 1 | 7,63 | 1 | B |
| 3 | 7,78 | 3 | B |

Figura 28: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc6ZZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

7.3 Apéndice III

Análisis estadístico de las diferencias entre tratamientos para el parámetro pCu medido en agua de poro para el suelo de estudio

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,73298
Error: 0,0600 gl: 28

| tratamiento | Medias | n | | | | |
|-------------|--------|---|---|---|---|---|
| C- | 4,85 | 3 | A | | | |
| CoZA | 5,66 | 3 | | B | | |
| Co | 6,44 | 3 | | | C | |
| C+ | 7,08 | 3 | | | C | |
| CoZZA | 8,20 | 3 | | | | D |
| CoBc3ZA | 8,62 | 3 | | | D | E |
| CoZ | 8,82 | 3 | | | D | E |
| CoBc6 | 8,88 | 3 | | | D | E |
| CoBc3 | 9,21 | 3 | | | | E |
| CoBc6ZA | 9,24 | 3 | | | | E |
| CoBc6Z | 10,22 | 3 | | | | F |
| CoBc3Z | 10,28 | 3 | | | | F |
| CoBc3ZZA | 10,35 | 3 | | | | F |
| CoBc6ZZA | 10,61 | 3 | | | | F |

Figura 29: Diferencias entre tratamientos para el parámetro pCu²⁺ medido en agua de poro en la semana 1. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,95103
Error: 0,0778 gl: 22

| tratamiento | Medias | n | | | | | | |
|-------------|--------|---|---|---|---|---|---|-----|
| C- | 5,35 | 2 | A | | | | | |
| C+ | 6,49 | 3 | | B | | | | |
| Co | 7,31 | 3 | | B | C | | | |
| CoZA | 7,33 | 3 | | B | C | | | |
| CoBc6 | 7,82 | 3 | | | C | D | | |
| CoBc3 | 8,34 | 1 | | | | D | E | |
| CoBc6ZA | 8,65 | 3 | | | | D | E | |
| CoBc3ZA | 8,88 | 3 | | | | | E | F |
| CoBc6Z | 9,70 | 3 | | | | | | F G |
| CoBc3Z | 9,73 | 2 | | | | | | F G |
| CoZ | 9,73 | 3 | | | | | | F G |
| CoBc3ZZA | 9,79 | 1 | | | | | | F G |
| CoZZA | 10,04 | 3 | | | | | | G |
| CoBc6ZZA | 10,14 | 3 | | | | | | G |

Figura 30: Diferencias entre tratamientos para el parámetro pCu^{2+} medido en agua de poro en la semana 3. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,20964
Error: 0,1635 gl: 28

| tratamiento | Medias | n | | | | | | |
|-------------|--------|---|---|---|---|---|---|--|
| C- | 6,51 | 3 | A | | | | | |
| C+ | 8,21 | 3 | | B | | | | |
| CoBc3ZA | 8,55 | 3 | | B | C | | | |
| CoBc6 | 9,34 | 3 | | B | C | D | | |
| CoBc6ZA | 9,61 | 3 | | | C | D | | |
| Co | 9,72 | 3 | | | C | D | | |
| CoBc3 | 9,76 | 3 | | | | D | | |
| CoZA | 9,90 | 3 | | | | D | | |
| CoBc3ZZA | 10,15 | 3 | | | | D | E | |
| CoBc6ZZA | 10,24 | 3 | | | | D | E | |
| CoBc3Z | 10,29 | 3 | | | | D | E | |
| CoBc6Z | 10,36 | 3 | | | | D | E | |
| CoZZA | 11,15 | 3 | | | | | E | |
| CoZ | 11,16 | 3 | | | | | E | |

Figura 31: Diferencias entre tratamientos para el parámetro pCu^{2+} medido en agua de poro en la semana 14. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

7.4 Apéndice IV

Análisis estadístico de las diferencias entre semanas por tratamiento para el parámetro pCu medido en agua de poro para el suelo de estudio

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,89271
 Error: 0,1270 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 3 | 6,49 | 3 | A |
| 1 | 7,08 | 3 | A |
| 14 | 8,21 | 3 | B |

Figura 32: Diferencias entre semanas para el parámetro pCu²⁺ medido en el agua de poro para el tratamiento C+. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas.

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,35638
 Error: 0,0157 gl: 5

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 1 | 4,85 | 3 | A |
| 3 | 5,35 | 2 | B |
| 14 | 6,51 | 3 | C |

Figura 33: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento C-. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,69349
 Error: 0,4570 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 1 | 6,44 | 3 | A |
| 3 | 7,31 | 3 | A |
| 14 | 9,72 | 3 | B |

Figura 34: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento Co. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,36679
 Error: 0,0110 gl: 4

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 3 | 8,34 | 1 | A |
| 1 | 9,21 | 3 | B |
| 14 | 9,76 | 3 | C |

Figura 35: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,65448
 Error: 0,0683 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 3 | 7,82 | 3 | A |
| 1 | 8,88 | 3 | B |
| 14 | 9,34 | 3 | B |

Figura 36: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoZ. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,80913
 Error: 0,1043 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 1 | 5,66 | 3 | A |
| 3 | 7,33 | 3 | B |
| 14 | 9,90 | 3 | C |

Figura 37: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoZZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,59751
 Error: 0,0569 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 1 | 8,82 | 3 | A |
| 3 | 9,73 | 3 | B |
| 14 | 11,16 | 3 | C |

Figura 38: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc3. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,46732
 Error: 0,0348 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 1 | 8,20 | 3 | A |
| 3 | 10,04 | 3 | B |
| 14 | 11,15 | 3 | C |

Figura 39: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc6. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,22606
 Error: 0,2395 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 14 | 8,55 | 3 | A |
| 1 | 8,62 | 3 | A |
| 3 | 8,88 | 3 | A |

Figura 40: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc3ZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,36371
 Error: 0,0164 gl: 5

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 3 | 9,73 | 2 | A |
| 1 | 10,28 | 3 | B |
| 14 | 10,29 | 3 | B |

Figura 41: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc3Z. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,97200
 Error: 0,0774 gl: 4

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 3 | 9,79 | 1 | A |
| 14 | 10,15 | 3 | A |
| 1 | 10,35 | 3 | A |

Figura 42: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc3ZZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,63028
 Error: 0,0633 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|-----|
| 3 | 8,65 | 3 | A |
| 1 | 9,24 | 3 | A B |
| 14 | 9,61 | 3 | B |

Figura 43: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc6ZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,26459
Error: 0,0112 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 3 | 9,70 | 3 | A |
| 1 | 10,22 | 3 | B |
| 14 | 10,36 | 3 | B |

Figura 44: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc6Z. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,71003
Error: 0,0803 gl: 6

| Semana | Medias | n | |
|--------|--------|---|---|
| 3 | 10,14 | 3 | A |
| 14 | 10,24 | 3 | A |
| 1 | 10,61 | 3 | A |

Figura 45: Diferencias entre semanas para el parámetro pH medido en el agua de poro para el tratamiento CoBc6ZZA. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

7.5 Apéndice V

Análisis estadístico de las diferencias entre tratamientos para el parámetro Biomasa seca de vástagos de *Lolium perenne* L. (Ballica perenne)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,79625
Error: 0,3605 gl: 28

| tratamiento | Medias | n | | | | |
|-------------|--------|---|---|---|---|---|
| CoBc6ZZA | 0,09 | 3 | A | | | |
| CoBc6Z | 0,10 | 3 | A | | | |
| CoBc3ZZA | 0,25 | 3 | A | B | | |
| CoBc3Z | 0,26 | 3 | A | B | | |
| C- | 0,60 | 3 | A | B | C | |
| C+ | 2,04 | 3 | | B | C | D |
| CoBc3 | 2,21 | 3 | | | C | D |
| CoBc6ZA | 2,56 | 3 | | | | D |
| CoBc6 | 2,86 | 3 | | | | D |
| CoZA | 3,29 | 3 | | | | D |
| CoBc3ZA | 3,39 | 3 | | | | D |
| Co | 3,40 | 3 | | | | D |
| CoZZA | 3,50 | 3 | | | | D |
| CoZ | 3,64 | 3 | | | | D |

Figura 46: Diferencias entre tratamientos para el parámetro Biomasa seca de vástagos de *Lolium perenne* L. en la semana 14. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

7.6 Apéndice VI

Análisis estadístico de las diferencias entre tratamientos para el parámetro Densidad radical medida como cobertura radical de *Lolium perenne* L. (Ballica perenne)

| Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=31,81540 | | | | |
|---|--------|---|---|---|
| Error: 113,0840 gl: 28 | | | | |
| tratamiento | Medias | n | | |
| CoBc6Z | 6,57 | 3 | A | |
| CoBc6ZZA | 7,07 | 3 | A | |
| CoBc3ZZA | 10,53 | 3 | A | |
| C- | 13,95 | 3 | A | |
| CoBc3Z | 17,11 | 3 | A | |
| C+ | 35,66 | 3 | A | B |
| CoBc6ZA | 63,13 | 3 | B | C |
| CoBc6 | 63,78 | 3 | B | C |
| CoBc3 | 78,51 | 3 | C | D |
| CoBc3ZA | 82,02 | 3 | C | D |
| Co | 88,37 | 3 | C | D |
| CoZA | 97,29 | 3 | | D |
| CoZZA | 100,00 | 3 | | D |
| CoZ | 100,00 | 3 | | D |

Figura 47: Diferencias entre tratamientos para el parámetro Densidad radical medida como cobertura radical de *Lolium perenne* L. en la semana 14. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

7.7 Apéndice VII

Análisis estadístico de las diferencias entre tratamientos para el parámetro Conductividad eléctrica (CE) medido en agua de poro para el suelo de estudio

| Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,75495 | | | | |
|-----------------------------------|--------|---|---|-----|
| Error: 0,8479 gl: 28 | | | | |
| tratamiento | Medias | n | | |
| Co | 1,29 | 3 | A | |
| CoZZA | 1,62 | 3 | A | |
| C- | 1,74 | 3 | A | |
| C+ | 2,41 | 3 | A | B |
| CoBc3ZA | 4,60 | 3 | | B C |
| CoZA | 5,86 | 3 | | C D |
| CoZ | 7,45 | 3 | | D E |
| CoBc6ZA | 7,56 | 3 | | D E |
| CoBc3Z | 8,43 | 3 | | D E |
| CoBc6ZZA | 8,70 | 3 | | E |
| CoBc3ZZA | 8,72 | 3 | | E |
| CoBc3 | 9,29 | 3 | | E F |
| CoBc6Z | 9,40 | 3 | | E F |
| CoBc6 | 11,78 | 3 | | F |

Figura 48: Diferencias entre tratamientos para el parámetro CE medido en agua de poro en la semana 1. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,64603
Error: 0,3027 gl: 28

| tratamiento | Medias | n | | | | | |
|-------------|--------|---|---|---|---|---|---|
| C- | 1,66 | 3 | A | | | | |
| Co | 1,93 | 3 | A | | | | |
| C+ | 2,18 | 3 | A | | | | |
| CoZZA | 2,21 | 3 | A | | | | |
| CoBc3ZA | 5,89 | 3 | | B | | | |
| CoZ | 6,66 | 3 | | B | C | | |
| CoBc6ZA | 7,01 | 3 | | B | C | D | |
| CoBc6Z | 7,12 | 3 | | B | C | D | |
| CoBc6ZZA | 7,16 | 3 | | B | C | D | E |
| CoZA | 7,49 | 3 | | B | C | D | E |
| CoBc3Z | 8,07 | 3 | | | C | D | E |
| CoBc3 | 8,09 | 3 | | | C | D | E |
| CoBc3ZZA | 8,64 | 3 | | | | D | E |
| CoBc6 | 8,79 | 3 | | | | | E |

Figura 49: Diferencias entre tratamientos para el parámetro CE medido en agua de poro en la semana 3. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=2,33729
Error: 0,6103 gl: 28

| tratamiento | Medias | n | | | | | |
|-------------|--------|---|---|---|---|---|--|
| Co | 0,21 | 3 | A | | | | |
| CoZZA | 0,38 | 3 | A | | | | |
| CoBc6 | 0,62 | 3 | A | | | | |
| C+ | 0,68 | 3 | A | | | | |
| C- | 1,10 | 3 | A | | | | |
| CoBc3 | 1,97 | 3 | A | B | | | |
| CoZA | 3,78 | 3 | | B | C | | |
| CoBc6ZA | 4,71 | 3 | | | C | | |
| CoBc3ZA | 5,25 | 3 | | | C | | |
| CoZ | 5,32 | 3 | | | C | | |
| CoBc3Z | 8,07 | 3 | | | | D | |
| CoBc6Z | 8,43 | 3 | | | | D | |
| CoBc3ZZA | 9,01 | 3 | | | | D | |
| CoBc6ZZA | 9,39 | 3 | | | | D | |

Figura 50: Diferencias entre tratamientos para el parámetro CE medido en agua de poro en la semana 14. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

7.8 Apéndice VIII

Análisis estadístico de las diferencias entre tratamientos para el parámetro Acumulación de Cu en vástagos de *Lolium perenne* L. (Ballica perenne) hacia el final del experimento

| Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=151,80509 | | | |
|--|---------------|----------|---|
| Error: 2574,5369 gl: 28 | | | |
| Tratamiento | Medias | n | |
| C+ | 52,28 | 3 | A |
| CoBc6 | 69,85 | 3 | A |
| CoZZA | 71,48 | 3 | A |
| CoBc3 | 84,24 | 3 | A |
| Co | 84,60 | 3 | A |
| CoZA | 89,21 | 3 | A |
| CoZ | 90,45 | 3 | A |
| CoBc3ZA | 101,26 | 3 | A |
| CoBc6ZZA | 133,14 | 3 | A |
| CoBc6ZA | 151,06 | 3 | A |
| CoBc3Z | 168,35 | 3 | A |
| CoBc6Z | 337,48 | 3 | B |
| CoBc3ZZA | 396,86 | 3 | B |
| C- | 460,10 | 3 | B |

Figura 51: Diferencias entre tratamientos para el parámetro Acumulación de Cu en vástagos de *Lolium perenne* L. en la semana 14. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

7.9 Apéndice IX

Análisis estadístico de las diferencias entre tratamientos para el parámetro Acumulación de Zn en vástagos de *Lolium perenne* L. (Ballica perenne) hacia el final del experimento

| Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=129,16660 | | | | |
|--|--------|---|---|---|
| Error: 1863,9183 gl: 28 | | | | |
| Tratamiento | Medias | n | | |
| CoBc3Z | 106,69 | 3 | A | |
| CoBc6ZZA | 113,50 | 3 | A | |
| CoBc6Z | 123,61 | 3 | A | |
| CoBc3ZZA | 124,96 | 3 | A | |
| CoBc6 | 234,52 | 3 | A | B |
| CoBc6ZA | 277,43 | 3 | B | C |
| CoBc3 | 277,78 | 3 | B | C |
| CoZA | 287,22 | 3 | B | C |
| CoZ | 317,27 | 3 | B | C |
| CoBc3ZA | 325,35 | 3 | B | C |
| Co | 345,54 | 3 | B | C |
| CoZZA | 381,16 | 3 | | C |
| C+ | 397,64 | 3 | | C |
| C- | 931,15 | 3 | | D |

Figura 52: Diferencias entre tratamientos para el parámetro Acumulación de Zn en vástagos de *Lolium perenne* L. en la semana 14. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

7.10 Apéndice X

Análisis estadístico de las diferencias entre tratamientos para el parámetro Acumulación de Fe en vástagos de *Lolium perenne* L. (Ballica perenne) hacia el final del experimento

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1220,97596
Error: 166548,4765 gl: 28

| Tratamiento | Medias | n | | | |
|-------------|---------|---|---|---|---|
| CoZA | 492,54 | 3 | A | | |
| CoZ | 511,62 | 3 | A | | |
| CoBc6 | 558,90 | 3 | A | | |
| C+ | 634,30 | 3 | A | | |
| CoZZA | 668,34 | 3 | A | | |
| Co | 676,07 | 3 | A | | |
| CoBc3 | 791,59 | 3 | A | | |
| CoBc3ZA | 878,22 | 3 | A | | |
| CoBc6ZZA | 942,66 | 3 | A | | |
| CoBc6ZA | 1084,91 | 3 | A | | |
| CoBc3Z | 1182,29 | 3 | A | B | |
| C- | 2358,91 | 3 | | B | C |
| CoBc6Z | 2798,09 | 3 | | | C |
| CoBc3ZZA | 3178,82 | 3 | | | C |

Figura 53: Diferencias entre tratamientos para el parámetro Acumulación de Fe en vástagos de *Lolium perenne* L. en la semana 14. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas

7.11 Apéndice XI

Análisis estadístico de las diferencias entre tratamientos para el parámetro Acumulación de As en vástagos de *Lolium perenne* L. (Ballica perenne) hacia el final del experimento

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,98416
Error: 2,6785 gl: 27

| Tratamiento | Medias | n | | | | | | | |
|-------------|--------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C+ | 1,80 | 3 | A | | | | | | |
| CoZ | 4,05 | 3 | A | B | | | | | |
| CoZZA | 4,75 | 3 | A | B | C | | | | |
| CoBc6ZA | 5,15 | 3 | A | B | C | | | | |
| CoBc3ZA | 5,17 | 3 | A | B | C | | | | |
| CoZA | 5,24 | 3 | A | B | C | | | | |
| CoBc6 | 6,26 | 3 | A | B | C | | | | |
| CoBc3Z | 6,86 | 3 | | B | C | D | | | |
| CoBc3 | 8,82 | 3 | | B | C | D | E | | |
| Co | 9,64 | 3 | | | C | D | E | F | |
| CoBc3ZZA | 11,43 | 3 | | | | D | E | F | |
| CoBc6Z | 12,16 | 3 | | | | | E | F | |
| CoBc6ZZA | 14,18 | 2 | | | | | | F | |
| C- | 14,51 | 3 | | | | | | | F |

Figura 54: Diferencias entre tratamientos para el parámetro Acumulación de As en vástagos de *Lolium perenne* L. en la semana 14. Código de los tratamientos según el Cuadro 1. Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas