



UNIVERSIDAD DE CHILE-FACULTAD DE CIENCIAS-ESCUELA DE PREGRADO

EVALUACIÓN DEL USO DE *ATRIPLEX NUMMULARIA* CON LA APLICACIÓN
DE ENMIENDAS HÚMICAS PARA LA FITOESTABILIZACIÓN DE RELAVES
MINEROS.

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los
requisitos para optar al título de

Químico Ambiental

BRUNO NICOLAS LOCH ARELLANO

Directora Seminario de Título
Profesora Patrocinante

Dra. Yasna Tapia Fernández
M. Cs. Sylvia Copaja C.

Noviembre 2017
Santiago-Chile



INFORME DE APROBACIÓN DE SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por el candidato:

BRUNO NICOLAS LOCH ARELLANO

“EVALUACIÓN DEL USO DE *ATRIPLEX NUMMULARIA* CON LA APLICACIÓN DE ENMIENDAS HÚMICAS PARA LA FITOESTABILIZACIÓN DE RELAVES MINEROS”

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al título de Químico Ambiental.

Dra. Yasna Tapia Fernández
Directora del Seminario de Título

M. Cs. Sylvia Copaja Castillo
Profesora Patrocinante

Dra. María Cecilia Rojas Garrido
Presidenta

Dra. Claudia Ortiz Calderón
Correctora

Noviembre 2017
Santiago-Chile

AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer a la Dra. Yasna Tapia por darme la oportunidad de realizar este Seminario de Título. Agradezco también a todo el equipo del laboratorio. Aprecio mucho todo el apoyo que me brindaron y lo que me enseñaron, así como la buena disposición con la que me recibieron.

Agradecimientos también a las profesoras Sylvia Copaja y Cecilia Labbé por su buena disposición y su ayuda en este proceso.

Agradezco a toda mi familia por ser mi principal soporte durante todos estos años. Gracias a mis padres por ser unos excelentes consejeros y a mis hermanos por mantenerme siempre con ánimos.

Por último, agradezco a mis amigos íntimos y a mis compañeros de universidad por estar ahí cuando los necesitaba. Son una fuente de alegría constante que me permite seguir trabajando y creciendo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Antecedentes Generales.....	1
1.1.1	Minería en Chile	1
1.1.2	Relaves Mineros: Características Generales e Impactos	1
1.1.3	Normativas legales para relaves mineros.....	3
1.1.4	Relaves Mineros: Elementos metálicos y azufre.....	4
1.1.5	Fitorremediación: Características Generales.....	5
1.1.6	Selección de Especie Vegetal y Enmienda	6
1.1.7	Indicadores de Fitorremediación	8
1.2	Antecedentes Específicos	9
1.2.1	El Tranque de Relaves Ovejería	9
1.2.2	Fitoestabilización: Enmiendas y especie vegetal seleccionadas	10
1.3	Hipótesis	12
1.4	Objetivos.....	13
1.4.1	Objetivo General	13
1.4.2	Objetivos Específicos	13
II.	MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.1	Obtención de muestras de relave, especie vegetal y enmiendas orgánicas	14
2.2	Reactivos y Materiales.....	15
2.3	Tratamientos.....	17
2.4	Análisis de los sustratos.....	19
2.4.1	Determinación pH.....	19
2.4.2	Conductividad eléctrica	19
2.4.3	Materia Orgánica	19
2.4.4	Determinación de fósforo disponible.....	20
2.4.5	Determinación de nitrógeno disponible	21
2.4.6	Determinación de potasio disponible.....	22
2.4.7	Determinación de azufre extraíble.....	22
2.4.8	Determinación de cobre y molibdeno extraíbles con DTPA o disponibles.....	23
2.4.9	Determinación de cobre y molibdeno total	23

2.5	Análisis Compost	24
2.5.1	Determinación de pH	24
2.5.2	Determinación de Conductividad Eléctrica	24
2.5.3	Determinación de Materia Orgánica	24
2.5.4	Determinación de fósforo disponible	24
2.5.5	Determinación de azufre extraíble	25
2.5.6	Determinación de nitrógeno disponible	25
2.5.7	Determinación de potasio disponible	26
2.5.8	Determinación de cobre y molibdeno extraíbles con DTPA o disponibles	26
2.5.9	Determinación de cobre y molibdeno total	26
2.6	Tratamiento y Análisis de <i>A. nummularia</i>	26
2.6.1	Cultivo y tratamiento	26
2.6.2	Preparación de las muestras vegetales	27
2.6.3	Determinación de azufre	28
2.6.4	Determinación de cobre y molibdeno	28
2.6.5	Factores de Fitorremediación	29
2.7	Análisis estadístico	29
III.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
3.1	Caracterización Inicial	30
3.1.1	Caracterización de sustratos y compost	30
3.1.2	Caracterización <i>A. nummularia</i>	33
3.2	Parámetros de crecimiento de <i>A. nummularia</i>	34
3.3	Concentración de metales en sustrato	35
3.4	Concentración y contenido total de metales en tejido vegetal	38
3.4.1	Concentración y contenido total en tejido aéreo	38
3.4.2	Concentración y contenido total en Raíz	40
3.5	Concentración de S extraíble en sustratos	43
3.6	Concentración y contenido total de azufre en tejido vegetal	44
3.7	Factores de Fitorremediación	46
3.7.1	Índice de Translocación	47
3.7.2	Factor de Bioconcentración	49
IV.	CONCLUSIONES	54

V.	REFERENCIAS.....	56
VI.	ANEXOS.....	61
6.1	Índices de Translocación	61
6.2	Factores de Bioconcentración	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición Comercial Perl Humus.....	14
Tabla 2: Tratamientos estudiados con el sustrato correspondiente.	17
Tabla 3: Propiedades químicas de los tratamientos al inicio del ensayo.	30
Tabla 4: Caracterización inicial compost.....	31
Tabla 5: Caracterización inicial de <i>A. nummularia</i>	33
Tabla 6: Masa seca (g) de <i>A. nummularia</i> . Análisis a los 60 días.	34
Tabla 7: Masa seca (g) de <i>A. nummularia</i> a los 120 días de iniciado el ensayo.	34
Tabla 8: Concentración de Cu y Mo, total y disponible (mg kg^{-1}), en sustratos. Análisis a los 60 días.	36
Tabla 9: Concentración de Cu y Mo, total y disponible (mg kg^{-1}), en sustratos. Análisis a los 120 días.	36
Tabla 10: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de metales en tejido aéreo de <i>A. nummularia</i> . Análisis a los 60 días.....	38
Tabla 11: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido (mg) de metales en tejido aéreo de <i>A. nummularia</i> . Análisis a los 120 días.	38
Tabla 12: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de metales en raíz de <i>A. nummularia</i> . Análisis a los 60 días.	40
Tabla 13: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de metales en raíz de <i>A. nummularia</i> . Análisis a los 120 días.	41
Tabla 14: Concentración de S extraíble (mg kg^{-1}) en sustrato. Análisis a los 60 días...	44
Tabla 15: Concentración de S extraíble (mg kg^{-1}) en sustrato. Análisis a los 120 días.	44
Tabla 16: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de S en tejido aéreo de <i>A. nummularia</i> . Análisis a los 60 días.	45
Tabla 17: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de S en tejido vegetal de <i>A. nummularia</i> . Análisis a los 120 días.	45
Tabla 18: Índice de Translocación de Cu y Mo para <i>A. nummularia</i> . Análisis a los 60 días.	61
Tabla 19: Índice de Translocación de Cu y Mo para <i>A. nummularia</i> . Análisis a los 120 días.	61
Tabla 20: Factor de Bioconcentración en tejido aéreo y raíz de <i>A. nummularia</i> para Cu y Mo. Análisis a los 60 días.	62
Tabla 21: Factor de Bioconcentración en tejido aéreo y raíz <i>A. nummularia</i> para Cu y Mo. Análisis a los 120 días.....	62

Tabla 22: Factor de Bioconcentración en tejido aéreo y raíz *A. nummularia* para S.62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Localización del Tranque de Relave Ovejería, Localidad de Huechún, Comuna de Til Til. Región Metropolitana.	9
Figura 2: Modelo estructural de sustancia húmica.	11
Figura 3: Atriplex nummularia.	12
Figura 4: Esquema metodológico.	18
Figura 5: Aspecto general del ensayo a la primera semana de montado.	27
Figura 6: Índice de Translocación de Cu y Mo en A. nummularia. Análisis a los 60 días.).	47
Figura 7: Índice de Translocación de Cu y Mo en A. nummularia. Análisis a los 120 días..	47
Figura 8: Factor de Bioconcentración de metales para A. nummularia en tejido aéreo y raíz. Análisis a los 60 días..	49
Figura 9: Factor de Bioconcentración de metales para A. nummularia en tejido aéreo y raíz. Análisis a los 120 días..	50
Figura 10: Factor de Bioconcentración de azufre para A. nummularia.	50

RESUMEN

La minería del cobre es una actividad económica muy importante para el país, sin embargo, presenta diversos riesgos ambientales, principalmente asociados a la disposición de relaves mineros. Uno de los métodos utilizados en la remediación de estos relaves es la fitoestabilización, que se enfoca en generar una cobertura vegetal que permita la estabilización y contención del relave.

El presente trabajo tiene por objetivo evaluar la capacidad de *Atriplex nummularia*, en conjunto con las enmiendas orgánicas Perl Humus y compost, para la fitoestabilización de un relave minero de Chile (Tranque de Relaves Ovejería), con respecto a Cu, Mo y S. Para esto se implementó un ensayo en invernadero con macetas con tres sustratos: T1 (relave), T2 (Relave + Perl Humus) y T3 (Relave + compost). La proporción de la enmienda orgánica fue de 5% m/m. El sustrato fue caracterizado para: CE, pH, N, P, K, entre otros. La determinación de biomasa seca de tejido vegetal (aéreo y radicular) y de las concentraciones de Cu, Mo y S, tanto en sustrato como en tejido vegetal, se realizó a los 60 y 120 días. Con estos resultados, se determinó el índice de translocación (T_i) y el factor de bioconcentración (FBC).

Al final del ensayo, se encontró que la biomasa aérea y radicular fue mayor en los tratamientos con enmiendas orgánicas, siendo el tratamiento con Perl Humus (T2) en el que se generó la mayor biomasa de tejido aéreo. Las concentraciones de Cu (7,3–10,2 mg kg⁻¹) y Mo (1,0–3,0 mg kg⁻¹) en tejido aéreo de *A. nummularia* no presentaron niveles tóxicos (Cu > 20 mg kg⁻¹; Mo > 1 mg kg⁻¹), excepto en el tratamiento con compost (T3), en que los niveles de Mo fueron 10,2 mg kg⁻¹. En cada tratamiento, las concentraciones de S en tejido aéreo (7319–24452 mg kg⁻¹) superan los valores encontrados en suelos agrícolas. En relación con el índice de translocación (T_i), Cu (0,026–0,19), Mo (0,27–1,11) y S (0,25–0,93) mostraron valores menores a 1 en todos los tratamientos, excepto para Mo en relave (T1). Los valores más bajos de T_i fueron para el tratamiento con Perl Humus. Esto indicaría que en este tratamiento *A. nummularia* presenta una mayor acumulación de Cu, Mo y S en raíz que en los otros tratamientos, propiedad que favorece la fitoestabilización del relave. Respecto al factor de bioconcentración (FBC), en todos los tratamientos y tanto

para tejido aéreo como para raíz, los valores para Cu (0,0059-0,22) y Mo (0,03-0,36) fueron menores a 1 y los valores para S fueron mayores a 1 (9-57,5). Los resultados del factor de bioconcentración indican que el elemento que más se absorbe por el tejido vegetal es S, siendo el tratamiento con Perl Humus en el que se observa la mayor absorción.

Mediante el análisis de los resultados, es posible establecer que la adición de enmiendas orgánicas al relave minero aumenta el potencial de fitoestabilización de *A. nummularia*, respecto a Cu, Mo y S. La enmienda Perl Humus presentó ventajas sobre el compost, principalmente para la acumulación en raíz de Cu y S. Por esto, se podría recomendar el uso de esta especie vegetal ayudada por la enmienda orgánica Perl Humus para la estabilización química de relaves con alto contenido de Cu y S.

ABSTRACT

Copper mining is a very important economic activity for the country, however, it presents several environmental risks, mainly associated with the disposal of mine tailings. One of the methods used in the remediation of these tailings is the phytostabilization, which focuses on generating a vegetative cap that allows the stabilization and containment of the tailings.

The present work aims to evaluate the capacity of *Atriplex nummularia*, in conjunction with the organic amendments Perl Humus and compost, to achieve the phytostabilization of a Chilean mine tailings (Tranque de Relaves Ovejería), regarding Cu, Mo and S. For this, a greenhouse experiment was implemented with three substrata: T1 (Tailings), T2 (Tailings + Perl Humus) and T3 (Tailings + compost). The proportion of the amendments was 5% w/w. The substrata was characterized for: EC, pH, N, P, K, among others. The determination of dry biomass of vegetal tissue (aerial and root) and the concentration of Cu, Mo and S, both in substrate and in plant tissue, was carried out at 60 and 120 days. With these results, the translocation index (T_i) and the bioconcentration factor (FBC) were determined.

At the end of the experiment, it was found that the aerial and root biomass was higher in the treatments with organic amendments, being the treatment with Perl Humus (T2) in which the highest biomass of aerial tissue was generated. The concentration of Cu (7,3–10,2 mg kg⁻¹) and Mo (1,0–3,0 mg kg⁻¹) in aerial tissue of *A. nummularia* did not present toxic levels (Cu > 20 mg kg⁻¹; Mo > 1 mg kg⁻¹), except for the treatment with compost (T3), in which the levels of Mo were 10,2 mg kg⁻¹. In each treatment, the concentrations of S in aerial tissue (7319–24452 mg kg⁻¹) exceeds the values found in agricultural soils. Regarding the translocation index (T_i), Cu (0,026–0,19), Mo (0,27–1,11) and S (0,25–0,93) showed values lower than 1 in all treatments, except for Mo in tailings (T1). The lowest T_i values were for the Perl Humus treatment. This would indicate that in this treatment *A. nummularia* presents a higher accumulation of Cu, Mo and S in root than in the other treatments, property that favors the phytostabilization of the tailings. Concerning the bioconcentration factor (FBC), in all the treatments and for both aerial and

root tissue, the values for Cu (0,0059-0,22) and Mo (0,03-0,36) were less than 1 and the values for S were greater than 1 (9-57,5). The results of the bioconcentration factor indicate that the element that is more absorbed by the plant tissue is S, being the treatment with Perl Humus in which the greater absorption is observed.

By analyzing the results it is possible to establish that the addition of organic amendments to the mine tailings increases the phytostabilization potential of *A. nummularia*, regarding Cu, Mo and S. The amendment Perl Humus showed advantages over compost, mainly for the accumulation of Cu and S in roots. For this reason, the use of this species, aided by the organic amendment Perl Humus, could be recommended for the chemical stabilization of mine tailings with high content of Cu and S.

I.INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes Generales.

1.1.1 Minería en Chile.

La minería es una de las principales actividades industriales que se desarrolla en Chile, siendo fundamental en el desarrollo económico del país, principalmente en los siglos XIX y XX con el salitre y en el siglo XIX con el cobre (Lagos y col., 2001). En la actualidad Chile es el mayor productor de cobre a nivel mundial, actividad que constituye cerca del 11% del PIB nacional y cerca del 50% de las exportaciones totales. El cobre en particular tiene una correspondencia del 89% del total de las exportaciones mineras, revelando su importancia para el país (Sernageomin, 2015).

Las principales preocupaciones medioambientales asociadas a la actividad minera se relacionan con el daño mecánico producido al paisaje y entorno en el cual se desarrolla la extracción del metal, el drenaje ácido y a la producción de relaves mineros (Dudka y Adriano, 1997). La minería del cobre, tan importante en nuestro país, genera una gran cantidad de residuos mineros y relaves a partir de sus procesos industriales (Jolly, 1985). Los relaves mineros causan un impacto medioambiental importante y representan un peligro potencial para las comunidades cercanas, tanto del lugar donde se produce la extracción como de donde se vierten los residuos.

1.1.2 Relaves Mineros: Características Generales e Impactos.

Los relaves mineros son una mezcla de roca finamente molida y fluidos de proceso que quedan luego de la extracción del mineral (Kossoff y col, 2014). Estos son almacenados en depósitos de relaves, estructuras construidas para la contención de estos residuos. Dentro de los diferentes tipos de depósitos se encuentran los tranques de relaves, cuya característica principal es que el muro de contención se construye con la fracción gruesa del relave (arenas), mientras que los sólidos finos se acumulan en la cubeta. La fracción fina se deja sedimentar y se forman lagunas de aguas claras en la superficie de la cubeta (Sernageomin, 2003).

Los sólidos presentes en los relaves son minerales no deseados como silicatos, óxidos, hidróxidos, carbonatos y sulfuros de diversos metales según el mineral explotado. Los relaves varían considerablemente en sus características químicas y físicas. Estas características incluyen:

- Composición mineralógica y geoquímica;
- densidad de las partículas del relave;
- permeabilidad;
- viscosidad;
- tamaño de poros; y
- propiedades de lixiviación.

Estas diferencias se deben a que cada relave proviene de un yacimiento minero particular, con metales específicos a extraer y con diferentes métodos industriales. Incluso entre actividades mineras que explotan un mismo metal pueden existir diferencias en las propiedades de sus relaves debido a los diferentes agentes químicos utilizados en sus tratamientos, lo que produce distintos efectos en las propiedades de los minerales (Alloway, 2010).

Aun cuando cada relave tenga propiedades físicas y químicas propias, la mayoría de estos residuos se caracterizan por ser infértiles para las plantas y presentar una serie de limitaciones para el crecimiento de éstas, como son: bajo valor de pH, alta salinidad, baja concentración de nutrientes, toxicidad debido a la presencia de diferentes metales, falta de estructura, baja capacidad de retención de agua y baja permeabilidad de aire (Santibañez y col., 2008).

Los **potenciales impactos ambientales** de un depósito de relave se relacionan con el clima de la zona donde se encuentra. En zonas de climas áridos y semiáridos, la parte líquida asociada a éstos se va evaporando, lo que deja al relave conformado mayoritariamente por partículas finas. Esto puede provocar la dispersión de metales y metaloides, por la acción erosiva del viento o el agua, hacia ecosistemas cercanos al tranque, zonas habitadas, zonas agrícolas o cuerpos de agua, contaminando estas áreas.

Tal dispersión puede tener efectos negativos en las poblaciones humanas por inhalación del material particulado o por el consumo de agua contaminada (Ortiz y col., 2008). Por otro lado, en ambientes de clima templado, el principal impacto medioambiental asociado a los tranques de relave es la **lixiviación de metales** y el **drenaje ácido** que pueden afectar diferentes cuerpos de agua (Mendez y Maier, 2007 b).

El drenaje ácido ocurre debido a que los residuos se ven sometidos a transformaciones químicas secundarias que pueden causar una disminución del pH y el subsecuente aumento en la movilidad de ciertos metales. Los relaves con contenido de pirita (FeS_2) son susceptibles a estas transformaciones, como es el caso de los residuos provenientes de la minería del cobre (Santibañez y col., 2008). Independiente del clima, también se pueden ver impactos ambientales ocurridos por fallas en el tranque de relave, lo que produciría la liberación del material contenido al ambiente (Kossoff y col, 2014).

En Chile se han identificado cerca de 720 depósitos de relave, de los cuales 132 se encuentran abandonados (Sernageomin, 2015). Relacionando los impactos mencionados con la gran cantidad de tranques de relaves del país se puede apreciar la importancia que presentan estos depósitos en términos de los riesgos ambientales asociados y a la relevancia que tiene la aplicación de medidas de manejo y prevención adecuadas.

1.1.3 Normativas legales para relaves mineros

Para la correcta disposición de relaves mineros, y la prevención de riesgos ambientales y humanos asociados, Chile recientemente cuenta con la Ley 20551 (2011), la cual contiene las disposiciones relacionadas con el cierre de faenas e instalaciones mineras, entre los cuales se encuentran los depósitos de relaves. El objetivo principal de esta ley es la mitigación de los efectos ligados al desarrollo de actividades mineras, asegurando la estabilidad física y química de las instalaciones y faenas una vez ha cesado la actividad propia.

Otras normas relacionadas son el DS 41/2012, Reglamento de la Ley de cierre de faenas e instalaciones mineras, la Ley 20.819 (2015), que modifica la Ley 20.551 y el DS 248 (2007), Reglamento para la Aprobación de Proyectos de Diseño, Construcción, Operación y Cierre de los Depósitos de Relave. Además, el DS 148 (2003), sobre manejo

de residuos peligrosos, indica que los relaves no serán considerados peligrosos siempre que su disposición final no se realice en conjunto con residuos sólidos domésticos u otros similares.

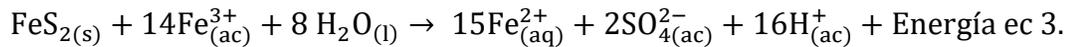
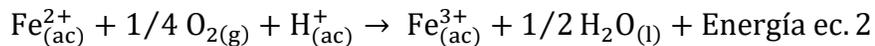
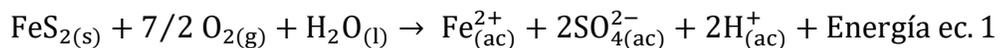
1.1.4 Relaves Mineros: Elementos metálicos y azufre

En suelos y relaves se utiliza el término elemento traza para identificar a los elementos químicos encontrados en concentraciones menores que 100 mg kg^{-1} (Hooda, 2010). Dentro de los elementos traza se encuentra el grupo de elementos traza metálicos o metales pesados, que son un grupo de elementos definidos por una densidad mayor a 6 g cm^{-3} . Algunos de estos elementos son nutrientes esenciales para el crecimiento normal de las plantas y mamíferos, mientras se mantengan en una baja concentración. Estos elementos son Cu, Fe, Mn, Mo y Zn, y son denominados micronutrientes (Hooda, 2010). Dependiendo de la actividad minera, se encontrarán diferentes tipos de elementos trazas metálicos en los relaves. Para la minería del Cu se tiene como producto asociado el Mo, por lo que en los relaves procedentes de esta minería se tiene la presencia de estos dos elementos traza metálicos (Sernageomin, 2015).

Algunos de los elementos traza metálicos pueden llegar a causar graves problemas para el crecimiento de las plantas y para la salud de las personas. Los metales y metaloides As, Cd, Hg, Pb y Se son los más importantes en términos de ecotoxicidad y afectación de la cadena trófica. El Cu y Mo también presentan características tóxicas al encontrarse en concentraciones por sobre cierto umbral. El exceso de Cu en personas afecta una gran variedad de procesos fisiológicos, tales como el deterioro de las propiedades de las membranas, de las funciones enzimáticas y del ADN, y puede producir heridas celulares debido a la generación de radicales OH^- y OH^+ a partir de peróxido de hidrógeno. En plantas, el exceso de Cu puede provocar daños en la raíz, elongación de las células de la raíz, alteración de la permeabilidad de la membrana, inhibición de la cadena de transporte electrónico fotosintética, daño en el ADN e inmovilización de Cu en membranas y en complejos proteicos (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007; Kabata-Pendias, 2011). En humanos, la presencia de Mo en cantidades altas se relaciona con la aparición de cáncer de estómago (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2007). En relación al Mo, los síntomas por toxicidad en plantas, bajo condiciones de campo, son poco frecuente. Sin embargo, altas

concentraciones de Mo en la vegetación pueden tener consecuencias negativas para el ganado, pudiendo desarrollar éste una condición denominada “molibdenosis”, que produce deficiencia de Cu inducida por la presencia de Mo (Adriano, 1986).

La disponibilidad y dinámica de los elementos trazas metálicos presentes en los relaves de la minería del Cu depende de varios factores, siendo el pH el más importante. El pH del relave depende de la presencia de minerales de S como la pirita. Éste mineral es oxidado en presencia de oxígeno, lo que produce la acidificación del relave y la consecuente liberación de los elementos traza metálicos (Jurjovec y col., 2001). Existen diferentes mecanismos propuestos para la oxidación de la pirita, siendo la más aceptada la presentada a continuación en tres etapas interconectadas: la oxidación de la pirita por oxígeno [ec. 1], la oxidación del ion hierro (II) a ion hierro (III) [ec. 2], y la oxidación de la pirita por el ion hierro (III) [ec. 3] (Lottermosser, 2010).



En cada uno de los pasos del mecanismo se libera H^{+} , lo que causa la acidificación. Además, se forman sulfatos que producen un aumento de la conductividad eléctrica que puede limitar el crecimiento de especies vegetales.

1.1.5 Fitorremediación: Características Generales

Entre las diferentes técnicas de tratamiento de relaves en etapa post operativa o de plan de cierre, la fitorremediación se presenta como un método sustentable, ambientalmente apropiado y de bajo costo (Ginocchio y León-Lobos, 2011 a). La fitorremediación tiene como propósito remover los contaminantes o dejarlos como especies inocuas o estabilizadas mediante la acción de plantas y su rizosfera. Esto reduce

el riesgo de exposición a agentes contaminantes, tanto para comunidades humanas como para ecosistemas cercanos a las zonas contaminadas (Méndez y Maier, 2007 b).

La fitoestabilización, un tipo de fitorremediación se enfoca en formar una capa vegetal para lograr la estabilización y la contención del relave principalmente por acción de las raíces (Méndez y Maier, 2007 a). Para esta técnica se utilizan especies vegetales tolerantes a la presencia de metales que sean capaces de inmovilizar y estabilizar, *in situ*, los contaminantes.

El objetivo final de una fitoestabilización es la instalación a largo plazo de una comunidad vegetal que fomente procesos para la formación de suelo, prevenga la dispersión de los contaminantes y la lixiviación, promueva la diversidad microbiana, y finalmente, restaure las funciones ecosistémicas del suelo para así establecer un estado autosustentable (Méndez y Mayer, 2007 b). La adsorción y acumulación de los metales en las raíces de las plantas y el aumento de materia orgánica que mejora la estructura del suelo y facilita la formación de complejos, evitan la dispersión y lixiviación de los metales (Méndez y Mayer, 2007a; Khan, 2013).

En el caso de la fitoestabilización de relaves mineros es necesaria la aplicación de enmiendas orgánicas debido a su carencia de fertilidad (Méndez y Mayer, 2007b). Existe una gran variedad de especies vegetales y enmiendas que se han utilizado para lograr la fitoestabilización de relaves mineros y suelos contaminados con metales (Lobos, 2008; Orchard y col., 2009; Córdova, 2010; Asensio y col. 2013). La selección de las potenciales especies vegetales y enmiendas debe basarse en las características particulares de cada relave, tanto químicas, físicas y biológicas. Además, se debe considerar el costo de la aplicación de esta metodología y la disponibilidad de las especies y las enmiendas en la zona. Es de suma importancia tener la precaución de que la enmienda sea compatible con la especie vegetal utilizada y que no represente una fuente de posibles impactos ambientales secundarios (Ginocchio y León-Lobos, 2011b).

1.1.6 Selección de Especie Vegetal y Enmienda

La especie vegetal utilizada para la fitoestabilización debe poseer una serie de cualidades que la caractericen como eficiente para esta técnica de remediación. Es

importante que para la elección de la especie vegetal se consideren los siguientes aspectos (Méndez y Maier, 2007a; Méndez y Maier, 2007b):

- No presente hiperacumulación de los contaminantes en el tejido aéreo.
- Acumule los contaminantes en las raíces.
- Alta tolerancia a la salinidad
- Presente alta tolerancia a la presencia de metales
- Bajo requerimiento hídrico y fácil manejo
- Genere un importante volumen de biomasa y raíces
- Especie nativa, de preferencia
- No comestible por animales.

En relación al uso de enmiendas en relaves mineros, se busca que cumplan con las siguientes características:

- Deben ser una fuente importante de materia orgánica.
- Deben proveer de nutrientes. Se buscan altos niveles de nitrógeno, fósforo y potasio (NPK).
- No deben constituir un riesgo de contaminación secundaria.
- Deben ser baratos y disponibles.
- Deben mejorar la estructura del suelo, la capacidad de retención de agua y la capacidad de intercambio catiónico.

Las enmiendas que más se suelen utilizar para la fitoestabilización de relaves son las orgánicas, debido a que ayudan a disminuir la biodisponibilidad de metales, sirven como proveedores de nutrientes de liberación lenta y actúan como inóculos microbianos (Méndez y Maier 2007a). Entre las enmiendas más utilizadas se encuentran los biosólidos (Santibañez y col. 2008; Brown y col, 2003), compost, residuos de la industria maderera, de la industria de la celulosa (Córdova, 2010), guano y residuos de actividades agrícolas. También se ha estudiado el uso de fertilizantes y de otras enmiendas de características inorgánicas (Ginocchio y León- Lobos, 2011b).

1.1.7 Indicadores de Fitorremediación

Para determinar la eficiencia de una planta, en términos de su capacidad de fitorremediación para suelos contaminados o relaves, es necesario utilizar ciertos factores o índices. Estos se utilizan para determinar la movilidad de metales desde el sustrato a tejidos vegetales y la habilidad de translocar los metales desde las raíces hacia el tejido aéreo (Marchiol y col., 2011). Entre los más utilizados se encuentran el índice de translocación y el factor de bioconcentración (Mendez y Maier, 2007a):

- **Índice de translocación** (T_i). Se obtiene a partir de la división entre la concentración del elemento traza metálico en las hojas y su concentración en raíces. Su utilidad radica en la determinación de la capacidad de la especie vegetal para translocar el contaminante a la parte aérea.

$$T_i = \frac{\text{Concentración del metal en tejido aéreo (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentración del metal en raíz (mg kg}^{-1}\text{)}} \text{ ec. 4}$$

- **Factor de Bioconcentración** (FBC). Utilizado para determinar la capacidad de una planta para acumular elementos traza metálicos. Se obtiene de la relación de concentración metal en el tejido vegetal y la concentración del metal en el suelo. El tejido vegetal estudiado puede ser tejido aéreo (FBC_A) o raíz (FBC_R).

$$FBC = \frac{\text{Concentración del metal en tejido aéreo o raíz (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentración}_{\text{total}} \text{ del metal en suelo (mg kg}^{-1}\text{)}} \text{ ec. 5}$$

Una fitoestabilización eficiente se relaciona con valores de T_i y FBC_A menores a 1 y valores de FBC_R mayores a 1. Esto indica una acumulación de los contaminantes en las raíces por sobre el tejido aéreo y una gran absorción de los componentes desde el medio hacia las raíces (Mendez y Maier, 2007a).

1.2 Antecedentes Específicos

1.2.1 El Tranque de Relaves Ovejería

La División Andina de Codelco-Chile desarrolla sus actividades en la alta cordillera de la V región, a unos 50 km al Noreste de la ciudad de Santiago. El inicio de sus actividades fue en 1970 y durante los primeros ocho años su funcionamiento tuvo una tasa de procesamiento de 10000 ton día⁻¹. En 1979 aumentó su producción a 33500 ton día⁻¹. Los relaves generados por esta actividad fueron depositados, en primera instancia, en el embalse Piuquenes y, posteriormente, en el embalse Los Leones. Una vez que estos embalses se aproximaron al término de su vida útil se hizo necesario contar con un nuevo tranque en el cual depositar los relaves producidos. En 1994 se autoriza el funcionamiento del Tranque de Relaves Ovejería, ubicado en la comunidad de Huechún, Comuna de Til Til en la Región Metropolitana. Este tranque ocupa actualmente alrededor de 850 ha con relaves. El Tranque está concebido para recibir diariamente 32.328 ton día⁻¹ de relaves (Codelco, 2013). Para este estudio las muestras se recolectaron en el muro del tranque, construido con la fracción gruesa del relave (arenas).

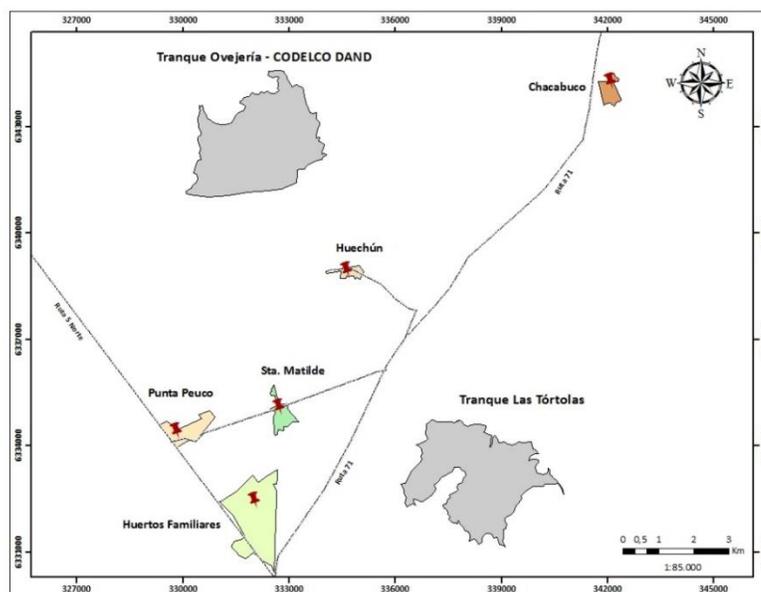


Figura 1. Localización del Tranque de Relave Ovejería, Localidad de Huechún, Comuna de Til Til. Región Metropolitana.

El estudio de la fitoestabilización de este relave se hace particularmente importante por lo mostrado en la Figura 1, donde se aprecia la cercanía del relave a diferentes localidades, principalmente Huechún, ubicado a aproximadamente a 3 km del Tranque Ovejería.

1.2.2 Fitoestabilización: Enmiendas y especie vegetal seleccionadas

Para la fitoestabilización de este relave se estudiarán dos enmiendas orgánicas, **Perl Humus y compost**. El primero es una enmienda comercial producida por Humintech (Alemania) compuesta por ácidos húmicos y la segunda es producida en una planta de compostaje proveniente de la comuna de la Pintana, la cual utiliza desechos domiciliarios y de ferias libres, de origen vegetal principalmente, para la producción del compost.

La enmienda Perl Humus ha sido utilizada para la remediación de un suelo agrícola contaminado por sales, demostrando su efectividad como enmienda orgánica (Quezada y col., 2016). El compost ha sido utilizado como enmienda en la fitoestabilización de diferentes suelos afectados por diversos metales. En la remediación de suelos contaminados por Cu, el compost ha demostrado ser útil al aumentar el pH, aumentar la cantidad de carbono y nitrógeno, y disminuir la concentración de Cu disponible (Rodríguez-Vila y col., 2014; Karami y col, 2011). Los estudios que evalúan el uso de compost para recuperación de suelos y fitorremediación se concentran en su capacidad para aportar materia orgánica al suelo contaminado o relave. Sin embargo, las características de las enmiendas son variables y es necesario determinar sus propiedades químicas para evaluar el comportamiento respecto a la estabilización de elementos químicos.

La principal característica de las enmiendas seleccionadas es su alto contenido de materia orgánica. Las sustancias húmicas son uno de los componentes principales de la materia orgánica y comprenden una mezcla compleja y amorfa de moléculas heterogéneas y químicamente reactivas, producidas por la descomposición de la materia orgánica (MacCarthy, 2001). El término “heterogéneo” hace referencia a la falta de una regularidad estructural en las sustancias húmicas, lo que impide definir una estructura base para estos compuestos. Es por esto que los estudios referidos a la estructura química de estas

sustancias se enfocan en su composición elemental o en su contenido de grupos funcionales. Este último enfoque presenta importancias para el análisis de las propiedades estructurales y químicas de las sustancias húmicas. Los grupos funcionales de mayor relevancia son el hidroxilo (-OH), el carboxilo (-COOH) y el fenólico, los que se observan en el modelo estructural de una sustancia húmica mostrado en la Figura 2 (Tan, 2014).

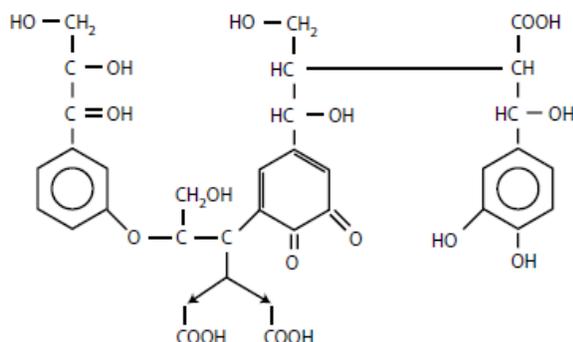


Figura 2. Modelo estructural de sustancia húmica (Tan, 2014).

Las características químicas de las sustancias húmicas tienen gran influencia en la dinámica entre los metales y la materia orgánica, especialmente en relación con la capacidad de esta última de retener diferentes especies de metales. La carga negativa de los compuestos húmicos y la formación de complejos de coordinación con grupos carboxilos e hidroxilos explican parte de esta relación (Stevenson, 1994).

El Cu es el elemento traza metálico que presenta una mayor afinidad por formar complejos con materia orgánica. Se ha visto una fuerte relación entre los niveles de materia orgánica presente en el suelo y la concentración de Cu en la solución suelo (McGrath y col., 1988), disminuyendo su concentración y su tendencia a ser absorbido por especies vegetales (Karami y col., 2011). También el Mo forma fuertes complejos con la materia orgánica, particularmente con aquella que presenta grupos catecol, provenientes principalmente de hojarasca (Wichard y col., 2009).

Respecto a la especie vegetal se utilizará *Atriplex nummularia*. Este género se conoce en Chile con el nombre de cachiyuyo (Riedmann y col., 2006) y tiene carácter halófito y xerófito. Diversos estudios han demostrado que las especies de este género son capaces de absorber altas concentraciones de Cu desde el suelo, en comparación a otros

géneros utilizados, acumulando el metal en raíces más que en las hojas, lo que favorece la estabilización debido a que se disminuye la posibilidad de que el metal se movilice (Ortiz y Kao, 2008). Especies de este género se han utilizado en Chile en el estudio de su capacidad de absorber As (Tapia y col., 2013a).

A. nummularia (Figura 3) es una especie arbustiva forrajera nativa de Australia, en regiones áridas y semiáridas, donde se utiliza principalmente con fines de pastoreo (Norman y col., 2007). En Chile, muchas especies del género *Atriplex*, tanto nativas como introducidas, han sido estudiadas en relación con la viabilidad y sustentabilidad asociada a su plantación a larga escala con fines de pastoreo. A partir del segundo quinquenio de los años setenta, la Corporación Nacional Forestal (CONAF) inició las primeras plantaciones extensivas de arbustos forrajeros, lo que permitió el establecimiento de 51265 ha de *A. nummularia* en la IV Región para el año 1998 (Torres, 1999).



Figura 3. *Atriplex nummularia*

1.3 Hipótesis

La aplicación de enmiendas orgánicas a relaves mineros favorecerá la capacidad de *Atriplex nummularia* para lograr la fitoestabilización de estos residuos, con respecto a cobre, molibdeno y azufre.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Evaluar el uso de enmiendas orgánicas para favorecer la capacidad de *A. nummularia* para lograr la fitoestabilización de relaves mineros, con respecto a cobre, molibdeno y azufre.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Evaluar las principales características químicas de la mezcla de relaves mineros con enmiendas orgánicas.
- Evaluar los parámetros de crecimiento de *A. nummularia* cultivada en relaves mineros con distintas enmiendas orgánicas.
- Comparar la concentración de Cu, Mo y S en raíces y parte aérea de individuos de *A. nummularia* establecidos en relaves mineros con la aplicación de enmiendas orgánicas.
- Comparar el índice de translocación de Cu, Mo y S a la parte aérea de la planta y el factor de bioconcentración en relaves mineros con la aplicación de enmiendas orgánicas.
- Comparar la capacidad de fitoestabilización de *A. nummularia* entre los diferentes sustratos, con respecto a Cu, Mo y S.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Obtención de muestras de relave, especie vegetal y enmiendas orgánicas

El relave minero proviene del Tranque de Relaves Ovejería, propiedad de CODELCO División Andina, ubicado en la comuna del Til Til, Región Metropolitana. La muestra de relaves se obtuvo del muro del Tranque. La enmienda Perl Humus (Humintech, GmbH, Alemania) fue suministrada por la empresa nacional Am Ecological, y el compost, fue proporcionada por la Dirección de Gestión Ambiental (DIGA) de la comuna de La Pintana. Los individuos de *A. nummularia* fueron adquiridos en el Vivero de CONAF de Illapel.

La composición del Perl Humus (Tabla 1) según la ficha técnica proporcionada por el proveedor (Humintech, Laboratorio Bio-DATA GMBH) corresponde a la siguiente:

Tabla 1: Composición Comercial Perl Humus

Parámetro	Valor
pH	5,0 – 6,0
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	0,22
Materia orgánica (%p/p)	70-75 %
Ácidos Húmicos (%p/p)	60%
CaO (%p/p)	3,34
N orgánico total (%p/p)	1,0 %
P ₂ O ₅ (%p/p)	0,1 %
K ₂ O (%p/p)	0,2 %

Los ensayos se realizaron en las instalaciones de invernadero y en el Laboratorio de Química de Suelos y Agua de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

2.2 Reactivos y Materiales

A continuación, se presenta la lista de equipos, materiales y reactivos utilizados.

Equipos y Materiales	Reactivos.
<ul style="list-style-type: none">• pH metro HANNA HI 3222	<ul style="list-style-type: none">• Solución para Desarrollo de Color para análisis de fósforo.
<ul style="list-style-type: none">• Mufla LEF 115S	<ul style="list-style-type: none">• Solución Molibdato de Amonio, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck, 83 %)
<ul style="list-style-type: none">• Espectrofotómetro HACH DR 5000	<ul style="list-style-type: none">• Solución de Tartrato de Potasio y Antimonio, $\text{KSbOC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (Merck, 99%).
<ul style="list-style-type: none">• Conductivímetro HANNA HI 4321	<ul style="list-style-type: none">• Solución de Ácido Sulfúrico, H_2SO_4, 2,5 M (Merck, 96%).
<ul style="list-style-type: none">• Destilador por arrastre de vapor	<ul style="list-style-type: none">• Carbón Activado (Merck).
<ul style="list-style-type: none">• Balanza Analítica Precisa 125A	<ul style="list-style-type: none">• Óxido de Magnesio (Merck).
<ul style="list-style-type: none">• Agitador Orbital Gerhardt LS2	<ul style="list-style-type: none">• Aleación de Devarda (50% Cu, 45% Al, 5% Zn) (Merck).
<ul style="list-style-type: none">• Autoclave HL30e	<ul style="list-style-type: none">• Rojo de Metilo (Merck).
<ul style="list-style-type: none">• Tubos para centrifuga de 40 mL	<ul style="list-style-type: none">• Verde de Bromocresol (Merck).
<ul style="list-style-type: none">• Tubos para centrifuga de 15 mL	<ul style="list-style-type: none">• Solución Ácido Bórico- Indicador 2%.
<ul style="list-style-type: none">• Matraces Erlenmeyer de 50 mL	<ul style="list-style-type: none">• Ácido Bórico, H_3BO_3 (Merck, 99,8%).
<ul style="list-style-type: none">• Probetas de 50 y 100 MI	<ul style="list-style-type: none">• Solución NaOH 0,1 M (99%).
<ul style="list-style-type: none">• Frascos de vidrio con tapa rosca Duran Shott 50 mL	<ul style="list-style-type: none">• Solución Cloruro de Potasio, KCl, 2 M (Merck, 99,5%).
<ul style="list-style-type: none">• Frascos plásticos de base cuadrada de 150 mL.	<ul style="list-style-type: none">• Solución Acetato de Amonio, $\text{NH}_4(\text{CH}_3\text{COO})$ 1 M, pH 7,0 (Merck, 98%)
<ul style="list-style-type: none">• Micropipetas y puntas de 1 y 5 mL	<ul style="list-style-type: none">• Solución goma arábica 5% (Winkler LTDA).
<ul style="list-style-type: none">• Pipetas de aforo de 10 MI	<ul style="list-style-type: none">• Solución Precipitante para análisis de azufre.

- Pipetas graduadas de 10 mL.
- Propipetas de 10 mL.
- Vasos precipitados de 25, 50, 100, 250 y 1000 mL.
- Matraces de aforo de 100, 1000 y 2000 mL.
- Embudo Buchner
- Perlas de ebullición
- Embudos de vidrio
- Matraces Kitasato
- Espátula
- Crisoles de 50 ml
- Agitadores magnéticos
- Embudos
- Espátula
- MP-AES Agilent 4200
- Molino IKA MF
- Agitador magnético Heidolph MR 3001 K
- Placa Calefactora Thermo Scientific Cimarec
- Estufa Memmert NF 160
- Solución de Ácido Acético, CH_3COOH , 10 M (Merck).
- Acetato de Bario, $\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (Merck, 99%).
- Solución de Dihidrógeno Fosfato de Calcio, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, 0,01 M (Riedel-de Haen, 99%).
- Solución DTPA (DTPA 0,005 M, CaCl_2 0,01 M, Trietanolamina 0,1 M) a pH 7,3.
- Solución Ácido Nítrico, HNO_3 , concentrado (Merck, 65%).
- Solución Peróxido de Hidrógeno, H_2O_2 , al 30% (Merck.).
- Solución Bicarbonato de Sodio, NaHCO_3 , 0,5 M a pH 8,5 (Merck.).
- Solución de Nitrato de Magnesio, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, 95% (Merck)
- Solución de Ácido Clorhídrico, HCl , 2 M (Merck, 37%).
- Solución Cloruro de Bario-Tween 80 (Merck).

2.3 Tratamientos

Se estudiaron 3 tratamientos definidos como T1, T2 y T3, donde cada uno se define según el sustrato en el que se desarrollan los individuos de *A. nummularia*. En la Tabla 2 se definen los sustratos correspondientes para cada uno de los tratamientos. Cada tratamiento consta de 8 macetas (2 L) y en cada una se plantó un individuo de *A. nummularia*.

Tabla 2: Tratamientos estudiados con el sustrato correspondiente.

Tratamiento	Sustrato
T1	Relave
T2	Relave + Perl Humus
T3	Relave + Compost

El tratamiento control corresponde a T1 sin aplicación de enmienda. Para los tratamientos T2 y T3, el relave se mezcló con las enmiendas en una dosis correspondiente al 5% relación masa/masa. Con esta dosis se ha observado un efecto significativo en el desarrollo de la masa de raíces y área foliar de especies vegetales, así como en la disponibilidad de metales en suelos contaminados (Geebeen y col. 2002). En los sustratos estudiados para cada tratamiento, y para el compost, se realizó la caracterización inicial de las principales propiedades químicas: pH, conductividad eléctrica (CE), materia orgánica, NPK (nitrógeno, fósforo y potasio) disponible, S extraíble, Cu y Mo. Estos dos últimos elementos se estudiaron en su forma disponible y total.

En el tejido vegetal se determinó las concentraciones de Cu, Mo y S en parte aérea y en raíz al inicio, a los 60 y 120 días de comenzado los tratamientos, mediante ensayos destructivos. Junto a cada cosecha de la especie vegetal, se determinó Cu y Mo (disponible y total) y S extraíble del sustrato remanente de cada maceta. La Figura 4 presenta en un esquema los tratamientos estudiados y los análisis realizados en cada cosecha.

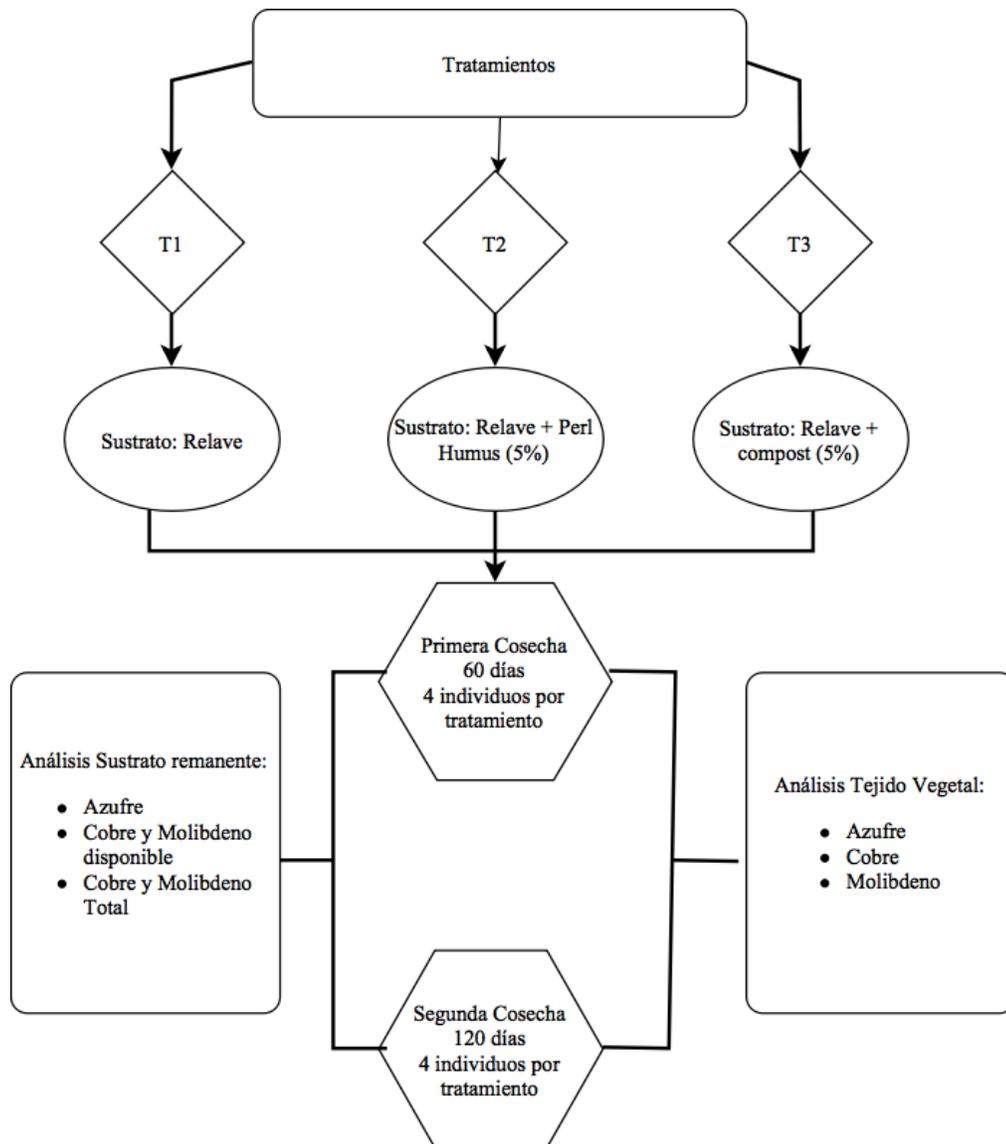


Figura 4. Esquema metodológico.

2.4 Análisis de los sustratos

Para los análisis de los sustratos utilizados (T1, T2 y T3) se utilizaron principalmente los métodos establecidos por Sadzawka y col. (2006). Tanto para la caracterización inicial como para el análisis en cada cosecha, cada sustrato se secó al aire y tamizó a 2 mm, según lo recomendado por Sadzawka y col. (2006).

2.4.1 Determinación pH

Determinación en suspensión acuosa 1:2,5 (peso / volumen). Se masó 20 g de sustrato (exactitud 0,1 g) en un frasco de plástico de 150 mL y se agregó 50 mL de agua destilada. Se agitó los frascos por 5 minutos a 180 golpes/min en agitador orbital y luego se dejó reposar por 2 horas. Finalmente se leyó el pH de la suspensión con un pH-metro.

2.4.2 Conductividad eléctrica

Extracto de saturación y conductivimetría. Se masó 150 g del sustrato con balanza analítica (exactitud 0,1 g) en un recipiente plástico y se agregó agua destilada hasta formar una pasta de saturación (según criterios establecidos en la bibliografía). Se dejó reposar la pasta por una noche y al día siguiente se somete a los criterios de saturación. Luego, se filtró al vacío utilizando un embudo Buchner con papel filtro y recolectando el filtrado en un matraz Kitasato. Se transfirió el filtrado a un matraz de 100 mL y se determinó la CE del filtrado utilizando un conductivímetro.

Criterios Saturación. Se verificó que cuando se golpeara el recipiente con la pasta contra el mesón no se acumulara agua en la superficie. Además de esto, la pasta brillaba por reflejo de la luz, fluía suavemente al inclinarse el recipiente y se deslizaba limpiamente de la espátula.

2.4.3 Materia Orgánica

Pérdida por calcinación (Sadzawka y col., 2006). Se masó 5 g de sustrato con balanza analítica (exactitud 0,01 g) en crisoles pre-pesados. Se dejó los crisoles en estufa a 105°C durante 2 horas, luego se dispusieron en un desecador hasta que se enfriaron y se masaron nuevamente. Posteriormente, los crisoles fueron calentados en mufla a 360°C por

16 horas. Finalmente se transfirieron al desecador y, una vez fríos, fueron masados una última vez.

2.4.4 Determinación de fósforo disponible

Extracción con solución de bicarbonato de sodio 0,5 mol L⁻¹ a pH 8,5 y determinación colorimétrica de azul de molibdeno (Sadzawka y col., 2006).

Preparación Solución Molibdato de Amonio. Se disolvió 12,0 g de heptamolibdato de amonio tetrahidrato, (NH₄)₆Mo₇O₂₄*4H₂O, en 250 mL de agua destilada.

Preparación de Solución de Tartrato de potasio y Antimonio. Se masó 0,3 g de tartrato de potasio y antimonio (III) hemihidrato, KSbOC₄H₄O₆*1/2H₂O, en un vaso precipitado de 100 mL, y se agregó 60 mL de agua destilada. Se agitó hasta que se disolviera completamente y la mezcla se transfirió a un matraz de aforo de 100 mL, enrazando con agua destilada.

Preparación Reactivo mezclado. En un vaso precipitado de 2 L, se agregó 1 L de ácido sulfúrico 2,5 mol L⁻¹, 250 mL de solución molibdato de potasio y 100 mL de solución de tartrato de potasio y antimonio. Se agitó y luego se trasvasió la mezcla a un matraz de aforo de 2 L, enrazando con agua destilada.

Preparación para reactivo de desarrollo de color. En un vaso precipitado de 1000 mL, se agregó 250 mL de reactivo mezclado, 1,25 g de ácido ascórbico (C₆H₈O₆) y 500 mL de agua destilada. Se agitó la mezcla hasta disolver y luego fue transferida a un matraz de aforo de 1000 mL, enrazando con agua destilada.

Procedimiento. Se masó 2,5 g de sustrato en balanza analítica (exactitud 0,01 g) en frascos plásticos de 150 mL, y se agregó 0,3 g de carbón activado y 50 mL de solución de bicarbonato de sodio 0,5 mol L⁻¹ ajustada a pH 8,5. Los frascos se agitaron por 30 minutos a 180 golpes/min en un agitador orbital. Finalizada la agitación se filtró a través de papel filtro. Luego, se transfirieron 5 mL del filtrado y de 6 soluciones estándar para la curva de calibración a matraces Erlenmeyer de 50 mL. Se agregaron 20 mL de reactivo de desarrollo de color, agitando suavemente para la liberación de CO₂ y se dejó reposar por 60 minutos. La absorbancia se leyó a 880 nm en el espectrofotómetro.

2.4.5 Determinación de nitrógeno disponible

Extracción con cloruro de potasio 2 mol L^{-1} , destilación de NH_3 y determinación por titulación (Sadzawka y col., 2006).

Preparación de óxido de magnesio. Se calcinó óxido de magnesio, MgO , en una mufla a 700°C durante 2 horas. Luego se enfrió en un desecador y se almacena para posterior uso.

Preparación de Aleación de Devarda. Se molió aleación de Devarda (50% Cu, 45% Al y 5% Zn) hasta que fuera capaz de pasar por un tamiz de 0,075 mm.

Preparación Solución Indicadora. Se masó 0,02 g de rojo de metilo en una balanza analítica y 0,1 g de verde de bromocresol, los cuales fueron traspasados a un vaso precipitado de 250 mL. Luego se agregó 100 mL de etanol 96% y se agitó hasta disolver.

Preparación de Solución ácido bórico indicador. En un vaso precipitado de 1000 mL se agregó 20 g de ácido bórico, H_3BO_3 , y 900 mL de agua destilada. Se procedió a disolver por calentamiento con agitación en placa calefactora. Una vez se hubo disuelto, se dejó enfriar y se agregaron 20 mL de solución indicadora, se mezcló y se ajustó a pH 5,0 con solución NaOH 0,1 M. La mezcla fue transferida a un matraz de aforo de 1 L y se enrazó con agua destilada.

Procedimiento. Se masó 5 g de sustrato con balanza analítica (exactitud 0,01 g) en frascos de plástico de 150 mL y se agregó 50 mL de solución KCl 2 mol L^{-1} . Los frascos se sometieron a agitación por 1 hora a 180 golpes/min en un agitador orbital y luego se dejó reposar por 30 minutos. Seguido de esto se filtró a través de papel filtro.

Para la destilación, en un matraz Erlenmeyer de 50 mL marcado a los 20 mL, se agregaron 5 mL de solución ácido bórico-indicador, y se colocó el matraz bajo el condensador del destilador. Por otro lado, en un matraz de destilación se agregó 10 mL del filtrado junto con 0,2 g de MgO y 0,2 g de aleación de Devarda. Se conectó el matraz al destilador por arrastre de vapor y se procedió a destilar. Se detuvo la destilación cuando el destilado alcanzara la marca de los 20 mL, luego de lo cual, se tituló con solución de ácido sulfúrico hasta cambio de color de verde a rosado.

2.4.6 Determinación de potasio disponible

Extracción con solución de acetato de amonio 1 mol L⁻¹ a pH 7,0 y determinación por Espectrofotómetro de Emisión Atómica mediante Plasma y Microondas (MP-AES) (Sadzawka y col., 2006). Se masó 5 g de sustrato con balanza analítica (exactitud 0,01 g) en un frasco de plástico de 150 mL. Se agregó 50 mL de solución acetato de amonio 1 M a pH 7,0. Los frascos se agitaron durante 30 minutos a 180 golpes/min en un agitador orbital. Transcurrido el tiempo de agitación, se filtraron las muestras a través de papel filtro. El potasio contenido en el filtrado se leyó mediante MP-AES.

2.4.7 Determinación de azufre extraíble

Extracción con solución de dihidrógeno fosfato de calcio 0,01 mol L⁻¹ y determinación turbidimétrica (Sadzawka y col., 2006).

Preparación de Solución de goma arábica al 5%. Se masó 2,5 g de goma arábica en balanza analítica. Luego fueron transferidos a un vaso precipitado de 100 mL y se agregó 40 mL de agua destilada. Se disolvió con calentamiento y agitación en placa calefactora. Posteriormente se filtró a través de papel filtro, recibiendo el filtrado en un matraz de aforo de 50 mL, enrazando con agua destilada una vez frío.

Preparación de Solución Precipitante. En un vaso precipitado de 250 mL se agregó 75 mL de solución de ácido acético 10 mol L⁻¹, 25 mL de solución de goma arábica y 20 g de acetato de bario, Ba(CH₃COO)₂. Se procedió a disolver con calentamiento y agitación en placa calefactora y luego se filtró a través de papel filtro, recibiendo en un vaso precipitado.

Procedimiento. Se masó 20 g de sustrato con balanza (exactitud 0,01 g) en frascos de plástico de 150 mL. Luego se adicionaron 0,5 g de carbón activado y 50 mL de dihidrógeno fosfato de calcio 0,01 M. Los frascos se agitaron por 30 minutos a 180 golpes/min en agitador orbital, luego de lo cual se filtró a través papel filtro. Posteriormente se transfirieron 10 mL de los filtrados y de 6 soluciones estándar a matraces Erlenmeyer de 50 mL. A cada matraz se le agregó 1 mL de solución precipitante,

se agitó y se dejó reposar por 30 minutos. Pasado el tiempo de reposo, se agitó suavemente y se leyó la absorbancia a 440 nm mediante espectrofotómetro.

2.4.8 Determinación de cobre y molibdeno extraíbles con DTPA o disponibles

Extracción con DTPA-CaCl₂-TEA a pH 7,3 y determinación por MP-AES (Sadzawka y col., 1990).

Preparación Solución de DTPA-CaCl₂-TEA. En un vaso precipitado de 1000 mL, se adicionó 500 mL de agua destilada, 13,3 mL de trietanolamina (TEA), 1,96 g de ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) y 1,47 g de CaCl₂*2H₂O. Luego se procedió a agitar con magnetos por el tiempo suficiente para que se disolviera. Una vez terminada la agitación, se agregaron 350 mL de agua destilada y se ajustó el pH a 7,3 con solución HCl 1 M. Finalmente, se trasvasió la solución a un matraz de aforo de 1000 mL y enrazando con agua destilada.

Procedimiento. Se masó 10 g de sustrato en frascos plásticos de 150 mL (exactitud 0,01 g) y se agregaron 20 mL de solución DTPA-CaCl₂-TEA. Los frascos se agitaron por 2 horas a 180 golpes/min en un agitador orbital. Inmediatamente finalizado el tiempo de agitación se filtraron las muestras a través de papel filtro. El Cu y Mo disponible contenidos en el filtrado se determinan mediante MP-AES.

No se determinó la concentración de Mo disponible en la caracterización inicial ni en el segundo período de estudio por complicaciones técnicas.

2.4.9 Determinación de cobre y molibdeno total

Digestión ácida en autoclave y determinación por MP-AES (Moreno, 2010). Se masó 0,5 g de muestra (exactitud 0,01 g) tamizada a 0,5 mm en frascos de digestión con tapa de teflón. Se adicionó 6 mL de agua destilada, 6 mL de ácido nítrico concentrado y 4 mL de agua oxigenada al 30%. Se dejó reposar los frascos durante la noche, bajo campana. Al día siguiente se sometieron a digestión en autoclave, a 125 °C y 1,5 kg cm⁻², durante 40 minutos. Luego de finalizado el proceso se filtró a través de papel filtro, recibiendo en tubos de centrifuga de 25 mL y enrazando con agua destilada. La concentración de Cu y Mo se determina mediante MP-AES.

2.5 Análisis Compost

Para la caracterización del compost se utilizan principalmente los métodos establecidos en Sadzawka et al. 2006 y 2005. El compost se tamizó a 16 mm y se secó a 70 °C hasta peso constante. Los reactivos utilizados para el análisis de compost se preparan de igual forma que los utilizados para el análisis de sustratos (Sección 2.4).

2.5.1 Determinación de pH

Determinación en suspensión acuosa 1:5 (peso/volumen) (Sadzawka y col., 2005). Se masó 40 g de compost (exactitud 0,1 g) en un frasco de plástico de 150 mL y se agregaron 200 mL de agua destilada. Los frascos se sometieron a agitación por 20 minutos a 180 golpes/min. Transcurrido el tiempo de agitación, se procedió a leer el pH de la suspensión con un pH-metro.

2.5.2 Determinación de Conductividad Eléctrica

Determinación en extracto 1:5 con agua destilada (Sadzawka y col., 2005). Se masó 40 g de compost (exactitud 0,1 g) en frascos plásticos de 150 mL y se agregó 200 mL de agua destilada. Los frascos se agitaron por 20 minutos a 180 golpes/min en un agitador orbital. El contenido de los frascos fue transferido a tubos de centrifuga y se procedió a centrifugar a 8000 g por 15 minutos. La CE se leyó en el sobrenadante obtenido de la centrifugación, utilizando para esto un conductivímetro.

2.5.3 Determinación de Materia Orgánica

Determinación por pérdida por calcinación (Sadzawka y col., 2005). Se masó 10 g de compost en balanza analítica (exactitud 0,01 g) en crisoles previamente pesado. Luego, las muestras fueron calcinadas en mufla a 550°C durante 2 horas. Posteriormente, se transfirieron los crisoles a un desecador y, una vez fríos, se masaron nuevamente.

2.5.4 Determinación de fósforo disponible

Extracción con solución de bicarbonato de sodio 0,5 mol L⁻¹ a pH 8,5 y determinación colorimétrica de azul de molibdeno (Sadzawka y col., 2006). Se masó 2,5 g de compost con balanza analítica (exactitud 0,01 g) en frascos de plástico de 150 mL.

Se agregaron 0,3 g de carbón activado y 50 mL de solución de bicarbonato de sodio 0,5 mol L⁻¹ ajustada a pH 8,5. Los frascos se agitaron por 30 minutos a 180 golpes/min, tras lo cual se filtró a través de papel filtro. Luego, se transfirieron 5 mL del filtrado y de 6 soluciones estándar a matraces Erlenmeyer de 50 mL y se adicionó 20 mL de reactivo de desarrollo de color. Se agitó la mezcla, se dejó reposar por 60 minutos y luego se leyó la absorbancia a 880 nm con espectrofotómetro.

2.5.5 Determinación de azufre extraíble

Extracción con solución de dihidrógeno fosfato de calcio 0,01 mol L⁻¹ y determinación turbidimétrica (Sadzawka y col., 2006). Se masó 10 g de compost con balanza analítica (exactitud 0,01 g) en frascos de plástico de 150 mL. Se agregó 0,5 g de carbón activado y 50 mL de dihidrógeno fosfato de calcio 0,01 mol L⁻¹. Se procedió a agitar por 30 minutos a 180 golpes/min en agitador orbital y luego se filtró a través de papel filtro. Posteriormente se transfirió 10 mL de los filtrados y de 6 soluciones estándar a matraces Erlenmeyer de 50 mL. Luego se agregó 1 mL de solución precipitante, se agitó y dejó reposar por 30 minutos. Transcurrido el tiempo de reposo, se mezcló suavemente y se procedió a leer la absorbancia a 440 nm en el espectrofotómetro.

2.5.6 Determinación de nitrógeno disponible

Extracción con KCl, destilación y titulación (Sadzawka y col., 2005). Se masó 40 g de compost (exactitud 0,01 g) en frascos plásticos de 250 mL y se agregaron 200 mL de solución KCl 2 mol L⁻¹. Los frascos se agitaron por 1 hora a 180 golpes/min y se dejaron reposar por 30 minutos. Luego, se filtró a través de papel filtro.

Para la destilación, en un matraz Erlenmeyer de 50 mL marcado a los 20 mL, se agregó 5 mL de solución ácido bórico-indicador, y se colocó este matraz bajo el condensador del destilador. Por otro lado, en un matraz de destilación se agregó 10 mL del filtrado junto con 0,2 g de MgO y 0,2 g de aleación de Devarda. Se conectó el matraz al destilador por arrastre de vapor y se procedió a destilar. Se detuvo la destilación cuando el destilado alcanzara la marca de los 20 mL, luego de lo cual, se tituló con solución de ácido sulfúrico hasta cambio de color de verde a rosado.

2.5.7 Determinación de potasio disponible

Extracción con solución de acetato de amonio 1 mol L⁻¹ a pH 7,0 y determinación por MP-AES (Sadzawka y col., 2006). Se masaron 40 g de compost en frascos plásticos de 250 mL (exactitud 0,01 g). Luego se agregaron 200 mL de acetato de amonio 1 mol L⁻¹ ajustado a pH 7,0. Los frascos se agitaron por 30 min a 180 golpes/min y después se filtró el contenido a través de papel filtro. El potasio contenido en el filtrado se leyó mediante MP-AES.

2.5.8 Determinación de cobre y molibdeno extraíbles con DTPA o disponibles

Extracción con DTPA-CaCl₂-TEA a pH 7,3 y determinación por MP-AES (Sadzawka y col., 1990). Se masó 40 g de compost (exactitud 0,01 g) en frascos plásticos de 250 mL y se agregó 200 mL de solución DTPA-CaCl₂-TEA. Se agitó la mezcla por 2 horas en un agitador orbital a 180 golpes por minuto. Transcurrido el tiempo de agitación, se filtró a través de papel filtro. La concentración de Cu y Mo en el filtrado se leyó mediante MP-AES.

2.5.9 Determinación de cobre y molibdeno total

Digestión ácida en autoclave y determinación por MP-AES (Moreno, 2010). Se masó 0,5 g de compost en balanza analítica (exactitud 0,0001 g), tamizado a 0,5 mm, y se transfirieron a frascos de digestión con tapa de teflón. Luego, se agregó 6 mL de agua destilada, 6 mL de ácido nítrico concentrado y 4 mL de agua oxigenada al 30%. Se dejan reposar los frascos durante la noche, bajo campana. Al día siguiente se someten a digestión en autoclave, a 125 °C y 1,5 kg cm⁻², durante 40 minutos. Una vez finalizada la digestión se procedió a filtrar a través de papel filtro, recibiendo en tubos de centrifuga y enrazando a 25 mL con agua destilada. La concentración de Cu y Mo se determina mediante MP-AES.

2.6 Tratamiento y Análisis de *A. nummularia*

2.6.1 Cultivo y tratamiento

Para el montaje del ensayo se utilizaron 24 macetas de 2 L. Estas 24 macetas se dividieron en los 3 tratamientos mencionados anteriormente (T1, T2 y T3), teniendo en 8

macetas por tratamiento. Se trasplantó un individuo de *A. nummularia* a cada maceta (Figura 5).

A todos los tratamientos se les aplicó, una vez por semana, 150 mL de una solución nutritiva en base a nitrógeno y fósforo, según lo recomendado por la solución nutritiva Hoagland y Aarnon (1950). Para esto se preparó $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ con una concentración de $0,23\text{g L}^{-1}$. Además, se regaba una vez por semana con agua potable a capacidad de campo. El ensayo se mantuvo por 120 días en condiciones de invernadero, desde inicios de octubre del 2016 hasta finales de enero del 2017. La temperatura media fue de 27°C .



Figura 5: Aspecto general del ensayo a la primera semana de montado.

2.6.2 Preparación de las muestras vegetales

Al inicio del ensayo, a los 60 y a los 120 días se realizaron los análisis de la especie vegetal. Se evaluaron parámetros de crecimiento como altura y peso seco, además de los parámetros químicos como concentración de Cu, Mo y S en tejido aéreo y en raíz (4 repeticiones). Las muestras fueron recolectadas de forma aleatoria.

Al cosechar las plantas, éstas fueron lavadas con agua destilada procurando retirar todo el sustrato adherido a ellas (tanto la parte aérea como la raíz). Luego fueron sometidas

a secado a 65 °C en estufa hasta peso constante. Posteriormente las muestras fueron molidas, parte aérea y raíz por separado, y tamizadas a 0,5mm (Molino, IKA MF).

2.6.3 Determinación de azufre

Calcinación con nitrato de magnesio y determinación por turbidimetría con sulfato de bario (Sadzawka y col., 2007).

Preparación Solución Cloruro de Bario-Tween 80. En un vaso precipitado de 100 mL se agregó 20 g de $BaCl_2 \cdot 2H_2O$, 20 mL de Tween 80 y 50 mL de agua destilada. Se agitó con magneto hasta disolver y se transfirió la mezcla a un matraz de aforo de 100 mL, enrazando con agua destilada.

Procedimiento. En crisoles de 30 mL se masó 0,25 g de muestra (exactitud 0,001 g) y se agregaron 2 mL de solución de nitrato de magnesio 95%. Los crisoles se calentaron en plato calefactor a 180 °C durante 2 horas. Luego se transfirieron los crisoles, aun calientes, a una mufla y se calcinaron a 500°C durante 4 horas. Una vez terminada la calcinación, se retiraron cuidadosamente los crisoles y se dejaron enfriar, para luego agregar 2 mL de agua destilada y 10 mL de ácido clorhídrico 2 mol L⁻¹. Se esperó a que cesara el burbujeo y luego se calentaron los crisoles en un plato calefactor hasta aparición de humos blancos y se procedió a enfriar. Posteriormente, se filtró el contenido de los crisoles a través de papel filtro, recibiendo el filtrado en un matraz aforado de 50 mL. Se enrazó con agua destilada a 45 mL.

Para la determinación de S en el filtrado, se transfirieron 10 mL de este y de la serie de estándares a matraces Erlenmeyer de 50 mL. Se agregó 1 mL de solución cloruro de bario-Tween 80 y se dejó reposar por 30 minutos. Luego se leyó la absorbancia a 440nm (Espectrofotómetro, HACH DR5000).

2.6.4 Determinación de cobre y molibdeno

Digestión ácida en autoclave y determinación por MP-AES. Se masó 0,5 g de muestra tamizada a 0,5 mm (exactitud 0,001 g) en frascos de digestión con tapa de teflón. Se adicionaron 5 mL de agua destilada, 4 mL de ácido nítrico concentrado y 2 mL de agua oxigenada al 30%. Los frascos se dejaron reposar durante la noche, bajo campana. Luego sometieron a digestión en autoclave a 125 °C y 1,5 kg cm⁻² durante 40 minutos (Moreno,

2010). Posteriormente, se filtró el contenido de los frascos a través de papel filtro, recibiendo en tubos de centrifuga y enrazando a 15 mL con agua destilada. La concentración de Cu y Mo se determinó mediante MP-AES.

A partir del análisis de tejido vegetal, tanto para metales como para azufre, se presentarán dos resultados para cada elemento. Uno corresponde a la concentración, expresada como miligramos del elemento por kilogramo de tejido vegetal seco, entregada en unidades de mg kg^{-1} . También se presentará el contenido total del elemento, expresado como mg, obtenido de la multiplicación de la concentración por la masa de tejido vegetal seco correspondiente.

2.6.5 Factores de Fitorremediación

Para cada repetición y elemento se calcularon los valores de índice de translocación (T_i), factor de bioconcentración para tejido aéreo (FBC_A) y factor de bioconcentración para raíz (FBC_R) según lo expresado en las ecuaciones [4] y [5].

2.7 Análisis estadístico

Para la caracterización inicial de los sustratos y compost se realizaron 4 repeticiones por muestra y los resultados se informan como el promedio de éstas.

Para los análisis de sustrato y tejido vegetal (parte aérea y raíz por separado) luego de cada cosecha, se tienen 4 repeticiones por tratamiento correspondientes a cada individuo de *A. nummularia*. Para analizar la distribución de los datos se utilizó el test de Shapiro-Wilks. Para el análisis de la homocedasticidad de los datos se utilizó el test-F. Luego se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia estadística de las diferencias encontradas entre los tratamientos estudiados. En el caso de encontrar diferencias significativas, se realizó un análisis post-hoc mediante el test de Tukey ($p \leq 0,05$).

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización Inicial

3.1.1 Caracterización de sustratos y compost

En la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos en los análisis de caracterización química inicial de los tratamientos. En las Tablas 1 y 4 se presentan las características de Perl Humus y compost, respectivamente.

Tabla 3: Propiedades químicas de los tratamientos al inicio del ensayo.

	T1	T2	T3
pH	6,3±0,1	6,8 ±0,5	7,7 ± 0,02
CE (dS m⁻¹)	3,80±0,1	12,5± 0,5	9,57 ± 1,05
Materia Orgánica (%)	0,31 ± 0,05	1,29 ± 0,03	1,55 ± 0,34
N-disponible (mg kg⁻¹)	6,6±1,8	112± 62	30,33 ± 4
P-disponible (mg kg⁻¹)	0,4±0,01	5,9±0,6	29,6 ± 2,8
K-disponible (mg kg⁻¹)	9,3±0,41	109,40±8,1	440,31 ± 5,55
Cu Total (mg kg⁻¹)	974± 43	887± 35	1029± 103
Cu-disponible (mg kg⁻¹)	20,1 ± 1,05	46,16 ± 2,37	24,95 ± 1,06
Mo Total (mg kg⁻¹)	86,56 ± 2,93	92,89 ± 8,87	74,89 ± 5,75
Mo-disponible (mg kg⁻¹)	s.d	0,5 ± 0,15	0,18 ± 0,01
S-extraíble (mg kg⁻¹)	2209 ± 102	1600 ± 234	849 ± 66

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar. s.d: sin información. T1: relave; T2: Relave+Perl Humus y T3: Relave+compost.

Tabla 4: Caracterización Inicial Compost

	Compost
pH	8,5 ± 0,01
CE (dS m⁻¹)	5,70± 0,1
P-disponible (mg kg⁻¹)	361,5 ± 18,9
N-disponible (mg kg⁻¹)	97,0±2,3
Materia Orgánica (%)	27,8 ± 0,29
K-disponible (mg kg⁻¹)	10243 ± 106
Cu-disponible (mg kg⁻¹)	6,93 ± 1,09
Mo-disponible (mg kg⁻¹)	3,51 ± 0,14
Cu Total (mg kg⁻¹)	46,13 ± 2,89
Mo Total (mg kg⁻¹)	4,62 ± 0,63
S-extraíble (mg kg⁻¹)	1644 ± 327

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar.

Analizando los resultados de pH se puede observar que T1 presenta un pH ligeramente ácido, mientras que el compost se muestra como ligeramente alcalino. Luego de la adición de las enmiendas orgánicas al relave se observa un incremento en el valor del pH, mayor en T3. Esto es atribuible al elevado pH del compost (Tabla 4). Se ha informado que la formación de compost se relaciona con la descomposición del NH₃ generando NH₄OH y a la presencia de cationes no ácidos (Walker, 2004). Un menor incremento de pH del relave se observa en T2, lo que se atribuye a la presencia de ácidos húmicos, que contienen protones dissociables (H⁺) por la presencia de grupos aromáticos, hidroxilos y carboxilos (Tan, 2010).

Con respecto a los valores de CE, se puede observar un incremento de ésta al agregar enmiendas orgánicas al relave, especialmente en T2. Según una clasificación de salinidad de suelos (Khan, 2013), T1 se consideraría ligeramente salino, mientras que T2 y T3 se considerarían fuertemente salinos. Los altos niveles de CE de los todos los tratamientos indican que es apropiado utilizar plantas halófitas. La alta CE de T2 es atribuible a su mayor contenido en N-disponible y S-extraíble que en contacto con el agua

forman NO_3^- y SO_4^{2-} , mientras que la CE en T3 se atribuye a un mayor contenido de K disponible y S extraíble.

Respecto a la materia orgánica, se advierte un aumento al agregar las enmiendas al relave. En T2 y T3 se aprecia un aumento de 4 y 5 veces el contenido de materia orgánica respectivamente en relación a T1. Es probable que un mayor contenido de materia orgánica y un mayor pH de T3 favorezcan la inmovilidad de Cu en el sustrato y por lo tanto disminuya la disponibilidad de este metal para la planta.

Con relación al análisis de NPK disponibles, en el caso T1 estos parámetros de fertilidad se encuentran muy por debajo de lo recomendado, lo que es característico de los relaves mineros (Santibañez y col., 2008). Se observa un incremento en cada nutriente para los tratamientos T2 y T3, con respecto a T1. En T3 se observa un mayor aumento de P y K, mientras que para T2 aumentan principalmente los niveles de N. Este aumento de nutrientes permite que T2 presenta valores medios para K y P, y una concentración alta de N, mientras que T3 presenta valores muy alto de K y P y una concentración media de N (Sánchez y Campos, 2011; Bernier, 2000.)

El Cu es un elemento encontrado normalmente en suelos en concentraciones totales desde 13 – 24 mg kg^{-1} (Hooda, 2010), alcanzando en casos excepcionales los 100 mg kg^{-1} , mientras que los valores de Mo total en suelos se encuentran en un rango de 0,2 – 5 mg kg^{-1} (Alloway, 2010). La Tabla 3 muestra que los valores de Cu y Mo total obtenidos para T2 y T3 son altos en comparación a los rangos mencionados anteriormente para suelos no impactados. Además, se puede observar que la concentración de Cu y Mo total en T2 y T3 no presenta mayores diferencias en relación a T1. Sin embargo, hay que considerar que digestiones de relave que incluyen HF extraen una mayor concentración de metales debido a que atacan los silicatos. Tapia (2015) informó para este relave una concentración total de Cu de $1999 \pm 223 \text{ mg kg}^{-1}$ y Mo $164 \pm 22 \text{ mg kg}^{-1}$ en muestra digeridas con HF y HClO_4 . Para efecto de este estudio la digestión ácida utilizada en los relaves es adecuada para interpretar los datos desde el punto de disponibilidad para las plantas.

Para evaluar si el metal podría ser absorbido por la planta, es necesario conocer su concentración disponible. En el caso del Cu disponible, T2 presenta valores mayores que T1 y T3. El Mo en general para T1, T2 y T3 se encuentra en muy baja concentración, debido principalmente a que es también baja la concentración de Mo total.

Respecto al contenido de S-extraíble, es notoriamente mayor en T1 respecto a T2 y T3. Por lo tanto, las plantas cultivadas en T1 podrían absorber más azufre. El comportamiento de estos últimos parámetros, contenido de metal y S, se analizará con más detalle en las siguientes secciones. En todos los tratamientos se encuentra que la concentración de S extraíble es alta en relación a suelos no contaminados, donde no se superan valores de 50 mg kg⁻¹ (Bashour y Sayegh, 2007).

3.1.2 Caracterización *A. nummularia*

En la Tabla 5 se presenta la concentración inicial de Cu, Mo y S en tejido vegetal de *A. nummularia*.

Tabla 5: Caracterización inicial de *A. nummularia*.

	Tejido Vegetal	
	Raíz	Aéreo
	----- mg kg ⁻¹ -----	
Cu	46,8 ±1,0	13,8 ±1,0
Mo	nd	nd
S	3997 ± 946	3154 ± 956

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar. Nd: no detectado.

Los resultados muestran que la concentración de Cu es mayor en raíz que en tejido aéreo. Las concentraciones de Cu en diferentes especies vegetales se encuentran entre los 4 y 15 mg kg⁻¹ en tejido aéreo, encontrándose valores excepcionales de 20 mg kg⁻¹ (Alloway, 2010). En relación con estos valores, la concentración de Cu encontrada para *A. nummularia* está dentro del promedio para tejido aéreo.

Los valores de Mo en plantas son menores que los de Cu, encontrándose bajo el límite de detección del método aplicado, tanto en raíz como en parte aérea. Generalmente,

el Mo en hoja se puede encontrar en concentraciones de 1 mg kg⁻¹ o menores, mientras que las raíces pueden contener varias veces esta concentración (Kabata-Pendias, 2011).

Respecto al S, se ha establecido que los valores normales en ciertos cultivos agrícolas son entre 4 y 6 g por kg de materia seca, mientras que para suelos ricos en S se pueden llegar a los 8 g por kg de materia seca (Haneklaus y col., 2003). Según esta relación, los valores encontrados para este elemento en la especie estudiada se encuentran dentro de valores promedios para suelos agrícolas. En general, y a diferencia de los metales traza que se concentran en las raíces, los macronutrientes como el S (SO₄²⁻), son distribuidos en niveles similares en todas las partes vitales (Navarro, 2003). Es por esto que la diferencia de S entre tejido aéreo y raíz es baja, en comparación a la encontrada para Cu.

3.2 Parámetros de crecimiento de *A. nummularia*

El peso seco de tejido vegetal, tanto para raíz como para tejido aéreo, se muestran en las Tablas 6 (primera cosecha) y en la Tabla 7 (segunda cosecha).

Tabla 6: Masa seca (g) de *A. nummularia*. Análisis a los 60 días.

Tratamiento	Masa Aérea (g)	Masa Raíz (g)
T1	1,79 ± 0,45 a	0,52 ± 0,17 a
T2	3,14 ± 1,68 a	0,73 ± 0,27 a
T3	3,71 ± 0,76 a	0,79 ± 0,18 a

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey (p < 0,05).

Tabla 7: Masa seca (g) de *A. nummularia* a los 120 días de iniciado el ensayo.

Tratamiento	Masa Aérea (g)	Masa Raíz (g)
T1	2,08 ± 0,52 c	0,70 ± 0,27 b
T2	11,55 ± 1,92 a	1,88 ± 0,11 a
T3	5,72 ± 0,28 b	1,33 ± 0,35 a

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey (p < 0,05).

En la primera cosecha se encontró que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, tanto para masa seca de tejido aéreo como para raíz.

En la segunda cosecha, la masa seca de tejido aéreo difiere significativamente entre los tratamientos, siguiendo el orden $T2 > T3 > T1$. En cuanto a la masa seca de raíz, T1 es significativamente menor que los otros tratamientos, mientras que T2 y T3 no presentan diferencias significativas entre sí.

Respecto a la variación en el tiempo, T1 no presentó variaciones de masa seca, ni para tejido aéreo ni para raíz. Por otro lado, T2 y T3 presentan un aumento en la masa seca, tanto para tejido aéreo como para raíz. Para tejido aéreo, T2 aumenta en un 267%, mientras que T3 presenta un aumento del 54%. Para raíz, T2 aumenta en un 157% y T3 en un 68%.

La menor generación de biomasa en T1 se debe a las bajas concentraciones de nutrientes, mientras que T2 y T3, al tener enmiendas orgánicas, presentan una mayor concentración de estos elementos esenciales (Tabla 3) y, por tanto, permiten un mayor crecimiento de la planta. También se puede atribuir la mayor generación de biomasa en los tratamientos con enmiendas orgánicas a mejoras en las propiedades físicas del relave, como la estructura, la capacidad de retención de agua y la porosidad (Santibañez y col., 2011). El mayor aumento de la biomasa para T2 (Perl Humus) en el tiempo se puede atribuir a la mayor conductividad eléctrica (salinidad), a mayor contenido de N y S extraíble respecto a T3. Se han estudiado varias especies de halófitas donde se ha encontrado una mayor generación de biomasa cuando son regadas con agua salinas (Choukr-Allah, 1996). En otros ensayos con Perl Humus también se encontró que su aplicación a suelos impactados por agua de mar aumentó la biomasa de *Lolium perenne* (Quezada y col., 2016).

3.3 Concentración de metales en sustrato

Los resultados de concentración de Cu y Mo, total y disponible, para los sustratos luego de la cosecha se presentan en la Tabla 8 (60 días) y en la Tabla 9 (120 días).

Tabla 8: Concentración de Cu y Mo, total y disponible (mg kg^{-1}), en sustratos. Análisis a los 60 días.

Tratamiento	Cu disponible (mg kg^{-1})	Cu Total (mg kg^{-1})	Mo disponible (mg kg^{-1})	Mo Total (mg kg^{-1})
T1	39,5 ± 2,5 ab	820,8 ± 27 a	0,25 ± 0,02 b	87,6 ± 8,2 a
T2	36,7 ± 2,2 b	798,65 ± 57,6 a	0,21 ± + 0,03 b	64,4 ± 12,1 b
T3	44,2 ± 4,49 a	764,7 ± 65,3 a	0,74 ± 0,06 a	60,57 ± 1,3 b

Valores corresponden a promedio ($n=4$) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Tabla 9: Concentración de Cu y Mo, total y disponible (mg kg^{-1}), en sustratos. Análisis a los 120 días.

Tratamiento	Cu disponible (mg kg^{-1})	Cu Total (mg kg^{-1})	Mo disponible (mg kg^{-1}) *	Mo Total (mg kg^{-1})
T1	40,1 ± 0,64 b	738,86 ± 53,41 a	-	66,89 ± 13,30 ab
T2	40,1 ± 2,81 b	805,15 ± 76,63 a	-	52,28 ± 5,51 b
T3	72,2 ± 3,56 a	713,81 ± 39,76 a	-	79,26 ± 9,69 a

Valores corresponden a promedio ($n=4$) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$). * No fue posible determinar Mo disponible.

Al observar los resultados de Cu total en el sustrato, no se presentan diferencias significativas entre los tratamientos, ni a los 60 ni a los 120 días.

Con respecto al Cu disponible, en la primera cosecha el tratamiento T3 presenta concentraciones significativamente mayores que T2, mientras que T1 presenta un nivel intermedio y sin diferencias significativas con los otros dos tratamientos. En el segundo periodo, la concentración en T3 es significativamente mayor que T1 y T2, mientras que en estos últimos tratamientos no existen diferencias significativas. Respecto a la variación en el tiempo para la concentración de Cu disponible, T3 presenta un aumento del 60%, T2 aumenta en un 9,3 % y T1 presenta una variación mínima.

En cuanto al Mo total, los resultados de la primera cosecha muestran que la concentración en T1 es significativamente mayor que en T2 y T3, mientras que entre estos últimos no se presentan diferencias significativas. Para la segunda cosecha, la concentración en T3 es significativamente mayor que en T2, mientras que T1 presenta un valor intermedio que no difiere significativamente de los otros tratamientos. Al analizar

la variación en el tiempo para Mo total, se tiene que T1 y T2 presentan una disminución del 24% y 19%, respectivamente, mientras que en T3 aumenta en un 30%.

Para la concentración de Mo disponible, en la primera cosecha se observa niveles significativamente mayores para T3 respecto a T2 y T1, mientras que los dos últimos no presentan diferencias entre sí. No fue posible determinar la concentración de Mo disponible para el segundo período de estudio.

Los resultados obtenidos indican que la presencia de compost en el sustrato (T3) altera de manera significativa la disponibilidad de Cu en el relave y su efecto aumenta en el tiempo. Los tratamientos T2 y T3 presentan una adición de sustancias orgánicas al sustrato. Es importante destacar que el DTPA, como agente quelante, extrae el metal asociado a diferentes fracciones del suelo, como a la soluble, la intercambiable, la complejada con sustancias orgánicas, las fijadas a óxidos de Fe y Mn, y la unida a carbonatos (Hooda, 2010).

Diversos estudios han encontrado que, en suelos con enmiendas orgánicas, la fracción que presenta mayor concentración de Cu es la orgánica, mientras que la que contiene la menor fracción es la intercambiable y la asociada a carbonatos, más fácilmente extraíbles por la planta (Narwal, 1998). Es probable que la mayor disponibilidad de Cu en T3 se deba a la presencia de materia orgánica disuelta en el compost ya que la aplicación de compost en suelos tiende a incrementar los niveles de estos componentes (Wright y col, 2008).

La materia orgánica disuelta tiene un rol único en la química de los metales pesados presentes en el suelo; reduce la adsorción superficial de los metales mediante dos posibles mecanismos: Competencia efectiva por el ion metálico, que produce la formación de complejos organometálicos solubles, o adsorción de los compuestos orgánicos en las superficies, liberando el metal hacia la solución (Antonadis and Alloway, 2002).

Al analizar el efecto de las enmiendas en la concentración de Mo, se observa que T3 presenta concentraciones mayores que los otros tratamientos. Es probable que esto se deba a la diferencia en el pH de los sustratos. La movilidad de este metal es altamente

dependiente del pH siendo menos soluble en pH ácido que en básico. Para T3, donde el sustrato es compost, se encuentra un pH ligeramente básico en la caracterización inicial, explicando la mayor disponibilidad de Mo en este tratamiento (Kabata-Pendias, 2011).

3.4 Concentración y contenido total de metales en tejido vegetal

3.4.1 Concentración y contenido total en tejido aéreo

En la Tabla 10 se presentan los resultados de la concentración y contenido total de Cu y Mo en el tejido aéreo para el análisis realizado a los 60 días de iniciado el tratamiento, mientras que la Tabla 11 presenta los resultados correspondientes al análisis de los 120 días.

Tabla 10: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de metales en tejido aéreo de *A. nummularia*. Análisis a los 60 días.

Tratamiento	Cu (mg kg^{-1})	Mo (mg kg^{-1})	Cu (mg)	Mo (mg)
T1	21,9 ± 3,0 a	2,65 ± 0,25 b	0,042 ± 0,003 a	0,0048 ± 0,001 b
T2	9,46 ± 2,6 b	1,26 ± 0,16 b	0,022 ± 0,004 b	0,0039 ± 0,002 b
T3	8,70 ± 0,64 b	9,30 ± 1,28 a	0,029 ± 0,005 b	0,0350 ± 0,011 a

Valores corresponden a promedio ($n=4$) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Tabla 11: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido (mg) de metales en tejido aéreo de *A. nummularia*. Análisis a los 120 días.

Tratamiento	Cu (mg kg^{-1})	Mo (mg kg^{-1})	Cu (mg)	Mo (mg)
T1	10,22 ± 0,89 a	3,03 ± 1,36 b	0,024 ± 0,003 c	0,006 ± 0,0001 b
T2	4,74 ± 0,62c	Nd	0,050 ± 0,004 a	nd
T3	7,03 ± 0,09b	10,22 ± 2,61 a	0,040 ± 0,002 b	0,058 ± 0,013 a

Valores corresponden a promedio ($n=4$) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$). nd= No Detectado.

Analizando los resultados de la primera cosecha de las plantas, se observa que T1 presenta valores de concentración y contenido total de Cu significativamente mayores que T2 y T3, mientras que estos últimos no presentan diferencias entre ellos. Respecto a Mo, T3 presenta valores de concentración y contenido total mayores que T2 y T1, mientras que estos últimos no presentan diferencias significativas entre ellos.

Para el segundo período de estudio se advierte el siguiente comportamiento para la concentración de Cu: $T1 > T3 > T2$. El análisis estadístico permitió establecer que existen diferencias significativas entre los tres tratamientos.

En el contenido total de Cu en planta también se encuentran variaciones significativas, siguiendo la relación $T2 > T3 > T1$. La diferencia entre la concentración y el contenido total de Cu para el segundo período se explica por la diferencia que se observa en la masa seca de tejido vegetal (Tablas 6 y 7). Debido a que T2 presenta el mayor aumento de masa seca para tejido aéreo, presenta el mayor contenido total de Cu, aun teniendo una menor concentración. Esto no ocurre en la primera cosecha debido a que la masa de tejido aéreo presenta una menor variación entre tratamientos en comparación a la segunda cosecha.

Con relación a Mo, T3 presenta valores de concentración y contenido total significativamente mayores que los otros tratamientos.

Analizando la variación en el tiempo, la concentración de Cu en tejido aéreo muestra una disminución para T1 y T2 del 53% y 50% respectivamente, mientras que T3 no presenta variación significativa. Para el contenido total de Cu, T1 disminuyó en un 43%, mientras que T2 y T3 presentaron un aumento del 127% y 27%, respectivamente.

En relación con la concentración de Mo en tejido aéreo, se observa un aumento para T1 y T3 del 14% y 10% respectivamente. Para la variación del contenido total de Mo, T1 y T3 presentan un aumento del 25% y 66% respectivamente.

La mayor absorción de Cu para tejido aéreo en T1, dada por la mayor concentración (mg kg^{-1}), puede deberse a las diferencias de pH entre los tratamientos. El tratamiento T1 muestra un pH de 6,3, mientras que los tratamientos T2 y T3 presentan valores de 6,8 y 7,7, respectivamente (Tabla 3). Se ha observado que en un rango de pH entre 7,0-8,0 la movilidad de Cu disminuye (Alloway, 2010). Además, la probable formación de complejos de este metal con materia orgánica, en T2 y T3, podría generar compuestos de Cu de alto peso molecular, lo que disminuye su translocación desde la raíz hacia las hojas.

La mayor concentración de Mo en tejido aéreo observada en T3 es efecto probable de su pH y su influencia sobre la disponibilidad de este metal. Como se ha indicado anteriormente, este metal presenta mayor solubilidad y movilidad a pH básico, lo que se presenta en T3. Además, según los resultados de la sección 3.3, en el tratamiento T3 se tiene la mayor concentración de Mo disponible. A diferencia del Cu, entre el Mo y la materia orgánica no se producen mayores interacciones que puedan afectar su movilidad y disponibilidad (Alloway, 2010).

Cabe destacar que las concentraciones de Cu para tejido aéreo en *A. nummularia* se encuentran dentro de los límites establecidos para suelos no contaminados (Alloway, 2010). Con respecto al Mo, los valores de T1 y T2 se encuentran en el rango esperado para suelos no contaminados, mientras que para el tratamiento T3 superan los valores promedios en suelos no contaminados (Kabata-Pendias, 2011). Esto implica que, en este relave, el Cu y el Mo presentan bajo riesgo de toxicidad para esta especie vegetal, excepto para el Mo en el tratamiento T3.

3.4.2 Concentración y contenido total en Raíz

Los resultados de concentración y cantidad total de Cu y Mo en raíz se muestran en las Tablas 12 y 13. La primera corresponde al análisis realizado a los 60 días de iniciado el tratamiento, mientras que la segunda presenta los resultados del ensayo a los 120 días de iniciado el ensayo.

Tabla 12: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de metales en raíz de *A. nummularia*. Análisis a los 60 días.

Tratamiento	Cu (mg kg^{-1})	Mo (mg kg^{-1})	Cu (mg)	Mo (mg)
T1	120,08 \pm 28,7 a	2,71 \pm 0,9 b	0,078 \pm 0,01 b	0,0018 \pm 0,0003 c
T2	161,13 \pm 35,8 a	5,16 \pm 1,7 b	0,143 \pm 0,019 a	0,0043 \pm 0,0007 b
T3	153,5 \pm 27,8 a	10,09 \pm 1,25 a	0,117 \pm 0,018 a	0,0088 \pm 0,0006 a

Valores corresponden a promedio ($n=4$) \pm desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Tabla 13: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de metales en raíz de *A. nummularia*. Análisis a los 120 días.

Tratamiento	Cu (mg kg^{-1})	Mo (mg kg^{-1})	Cu (mg)	Mo (mg)
T1	155,71 \pm 4,401 ab	9,35 \pm 2,47 b	0,13 \pm 0,03 c	0,007 \pm 0,001 b
T2	179,16 \pm 21,1 a	5,51 \pm 2,81 b	0,34 \pm 0,04 a	0,008 \pm 0,002 b
T3	138,48 \pm 23,88 b	28,7 \pm 9,4 a	0,22 \pm 0,02 b	0,046 \pm 0,008 a

Valores corresponden a promedio ($n=4$) \pm desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Analizando los resultados de la primera cosecha, para la concentración de Cu en raíz no existen diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, el contenido total de Cu en T1 es significativamente menor que en T2 y T3, mientras que estos últimos no presentan diferencias significativas entre ellos.

Respecto a Mo en raíz, la concentración en T3 es significativamente mayor que en los otros dos tratamientos, mientras que estos últimos no presentan diferencias significativas entre ellos. En el contenido total de Mo se advierte la tendencia $T3 > T2 > T1$, con diferencias significativas entre cada tratamiento.

Considerando los resultados de la segunda cosecha, la concentración de Cu en T2 es significativamente mayor que en T3, mientras que en T1 se obtiene un valor intermedio y sin diferencias significativas con los otros tratamientos. El contenido total de Cu sigue el orden $T2 > T3 > T1$, con diferencias significativas entre cada tratamiento. Al igual que para el tejido aéreo, las diferencias observadas entre concentración y contenido total se deben a las diferencias en los parámetros de crecimiento (peso seco) de los individuos de *A. nummularia*. Con relación a Mo, T3 muestra valores de concentración y contenido total de Mo significativamente mayores que T2 y T1, mientras que estos no presentan diferencias significativas entre ellos.

Analizando la variación entre períodos de estudio, para la concentración de Cu en raíz se encuentra que la variación es mínima. Por otro lado, el contenido total de Cu aumenta para T1, T2 y T3, en un 66%, 137% y 88%, respectivamente. Considerando la variación en la concentración de Mo, T2 presenta una variación mínima, mientras que para T1 y T3 se experimenta un aumento significativo del 245% y 184%, respectivamente.

Por otro lado, para el contenido total de Mo, el tratamiento T3 muestra un incremento del 422%, mientras que T2 y T1 se presentan relativamente constantes.

Comparando la concentración de Cu en los diferentes tejidos vegetales, la raíz presenta valores mucho mayores que el tejido aéreo (Sección 3.4.2), lo cual ocurre en ambas cosechas. Para la concentración de Mo las diferencias que se observan entre tejido aéreo y raíz son menores en comparación a Cu.

Analizando la concentración de Cu en tejido aéreo, en la primera y segunda cosecha es T1 donde se presenta la mayor concentración. Para la concentración de Cu en raíz, no se observan diferencias entre tratamientos para la primera cosecha, pero si en la segunda, donde T2, tratamiento con Perl Humus, presenta mayor concentración.

Observando la concentración de Cu en los sustratos y la presencia de este metal en el tejido vegetal, no se observa una posible relación entre el Cu extraíble por DTPA y el Cu absorbido por la planta. Se ha encontrado que el Cu extraíble por DTPA presenta una correlación positiva y significativa con el Cu asociado a carbonatos, Cu presente en complejos orgánicos, Cu residual, Cu total y Cu asociado a óxidos, pero no con el Cu presente en la fracción intercambiable (Su y Wong, 2003). Se debe tener en cuenta además que no todas las fracciones de Cu extraíbles por DTPA presentan la misma capacidad de ser absorbidas por la planta.

El tratamiento T3 presenta la mayor concentración de Cu extraíble con DTPA, pero es el tratamiento T1 el que presenta la mayor concentración de tejido aéreo y T2 el que presenta la mayor concentración en raíz. Esto puede significar que el tratamiento con Perl Humus mostró un aumento del Cu presente en la fracción intercambiable que no se vio reflejado en un aumento del Cu extraíble por DTPA, pero si en el contenido total de este metal en las plantas.

La mayor absorción de Cu en raíz por parte de T2 se puede asociar a una probable formación de complejos organometálicos de mayor peso molecular que aquellos formados en el compost. Estos compuestos se pueden adherir a las raíces o ser absorbidas por ellas, pero presentando una menor movilidad hacia el tejido aéreo. Como se ha dicho, la mayor

concentración de Cu en tejido aéreo en T1 se puede relacionar con una menor formación de complejos organometálicos, lo que aumentaría la movilidad de Cu dentro de la planta y su translocación hacia el tejido aéreo (Stevenson 1994).

En relación al comportamiento del Mo, se aprecia que el tratamiento T3 presenta una gran absorción de este metal por parte de la planta, presentando los valores de concentración más altos, tanto para raíz como para tejido aéreo. Esto se corresponde con lo observado en el análisis a los sustratos, donde se observó que es este tratamiento el que presenta la mayor concentración de Mo extraíble por DTPA. En el caso del Mo, a diferencia del caso del Cu, es posible que exista una relación directa entre el Mo extraíble por DTPA y el Mo absorbido por la planta. La alta absorción de Mo se relaciona con un mayor pH debido a la adición de compost. Un mayor pH aumenta la movilidad de Mo (Kabata-Pendias, 2011).

En relación con los tratamientos T1 y T2, estos no presentan diferencias significativas en las concentraciones de Mo disponible ni en las concentraciones en tejido vegetal, sin embargo, lo esperable era que el tratamiento T1 presentara una menor absorción de Mo debido a su ligera acidez. El hecho de que T2 no presente las diferencias esperadas con T1, en relación a la absorción de Mo, se puede relacionar con el contenido de ácidos húmicos presentes en el tratamiento T2 por la adición de Perl Humus. El Mo puede presentar baja disponibilidad en la presencia de ácidos húmicos debido a fenómenos de fijación (Kabata-Pendias,2011).

3.5 Concentración de S extraíble en sustratos

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para la concentración de S-extraíble en los sustratos luego de cada cosecha. En las Tablas 14 y 15 se muestran los resultados para la primera y segunda cosecha, respectivamente.

Tabla 14: Concentración de S extraíble (mg kg^{-1}) en sustrato.
Análisis a los 60 días.

Tratamiento	S extraíble (mg kg^{-1})
T1	1382 \pm 34 a
T2	1010 \pm 39 b
T3	1351 \pm 230 ab

Valores corresponden a promedio ($n=4$) \pm desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Tabla 15: Concentración de S extraíble (mg kg^{-1}) en sustrato.
Análisis a los 120 días.

Tratamiento	S extraíble (mg kg^{-1})
T1	810 \pm 78 b
T2	531 \pm 106 c
T3	1067 \pm 43 a

Valores corresponden a promedio ($n=4$) \pm desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Analizando los resultados de la primera cosecha, se advierte que T1 presenta una concentración de S extraíble significativamente mayor que T2, mientras que T3 mantiene un nivel intermedio que no representa diferencias significativas con los otros tratamientos. En la segunda cosecha existen diferencias significativas entre cada tratamiento, siguiendo la tendencia $T3 > T1 > T2$.

Con relación a la variación en el tiempo, los tratamientos T1, T2 y T3 presentan disminución en la concentración de S extraíble del 41%, 47% y 21%, respectivamente. Esta disminución es atribuible a procesos de lixiviación del S como la especie SO_4^{2-} , debido a que esta especie presenta una alta movilidad al encontrarse en la solución suelo (Navarro, 2003) y a procesos de absorción por parte de *A. nummularia*.

3.6 Concentración y contenido total de azufre en tejido vegetal

La concentración y el contenido total de S para tejido vegetal se muestran en las Tablas 16 y 17, la primera corresponde al análisis de los 60 días y la segunda a los 120

días. Debido a falta de material en la primera cosecha, el contenido de S en raíz se determinó sólo para la segunda.

Tabla 16: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de S en tejido aéreo de *A. nummularia*. Análisis a los 60 días.

Tratamiento	S (mg kg^{-1})	S (mg)
T1	13398± 7463 a	33,08 ± 12,1 b
T2	21580± 6063 a	64,82 ± 15,4 a
T3	24452± 5600 a	86,9 ± 8,01 a

Valores corresponden a promedio ($n=4$) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Tabla 17: Concentración (mg kg^{-1}) y contenido total (mg) de S en tejido vegetal de *A. nummularia*. Análisis a los 120 días.

Tratamiento	S en Tejido Aéreo		S en Raíz	
	S (mg kg^{-1})	S (mg)	S (mg kg^{-1})	S (mg)
T1	20524± 4554 a	46,84 ± 4,58 b	20831± 1118 b	14,64 ± 5,38 b
T2	7319 ± 760 b	79,15 ± 1,46 a	29612± 1394 a	55,61 ± 1,22 a
T3	8744± 1148 b	49,95 ± 5,82 b	16019 ± 3474 c	20,61 ± 4,42 b

Valores corresponden a promedio ($n=4$) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Considerando la concentración de S en tejido aéreo, en la primera cosecha no existen diferencias significativas entre los tratamientos. En relación con el contenido total de S, T1 presenta valores significativamente menores que T2 y T3, mientras que estos no presentan diferencias significativas entre sí. Para el segundo período, la concentración de S en tejido aéreo es significativamente mayor en T1, mientras que el contenido total de S es significativamente mayor en T2. En cuanto a la variación en el tiempo para la concentración de S en tejido aéreo, el tratamiento T1 presentó un aumento importante, mientras que T2 y T3 una disminución. Por otro lado, el contenido total de S aumenta para T1 y T2, mientras que T3 presenta una disminución del 43%.

Para la concentración de S en raíz, se presentan diferencias significativas entre los tratamientos, siguiendo la relación $T2 > T1 > T3$. Para el contenido total de S en raíz se tiene que es nuevamente T2 el que presenta el mayor valor, mientras que T1 y T3 no presentan diferencias significativas entre ellos.

Las diferencias entre concentración y contenido total de S en tejido vegetal se deben a las variaciones en la biomasa de *A. nummularia*. En el segundo período, T2 presenta la mayor biomasa, tanto para raíz como para tejido aéreo, lo que resultó en un mayor contenido total de S en estos tejidos.

Respecto al contenido de S, en el tratamiento T2 se presentan los mayores niveles, tanto para tejido aéreo como para raíz. En general, la concentración de S en *A. nummmularia* no sigue una tendencia clara con la aplicación de compost y Perl Humus, en comparación a lo observado para Cu y Mo. Sin embargo, en el contenido total de S se evidencia una tendencia que permite evaluar la absorción de este elemento por parte de la planta. En este sentido, la mayor absorción de S se observa en T2, lo que se puede atribuir a las propiedades químicas presentadas en la caracterización inicial de los sustratos, particularmente a pH y concentración de S-extraíble.

Se ha encontrado que a $\text{pH} > 6,0$, la adsorción de SO_4^{2-} es mínima y, por tanto, la mayoría de esta especie se encuentra en solución (Eriksen y col, 1998). El tratamiento T2 presenta valores de pH y concentración de S-extraíble intermedios respecto a T1 y T3, lo que presenta un valor óptimo para la absorción de S respecto a los otros tratamientos. Para T1, aun cuando se tengan altos valores de S- extraíble, su pH es menor que T2, disminuyendo la concentración de SO_4^{2-} en solución, mientras que T3 presenta mayor pH, pero menor S-extraíble.

Es importante destacar que las concentraciones de S encontradas en tejido aéreo para *A. nummularia* superan, en cada tratamiento, los niveles para las plantas establecidas en suelos, particularmente para el tratamiento T1. Los valores de S comúnmente encontrados en ciertos cultivos agrícolas varían entre 4 y 6 g por kg de materia seca (Haneklaus y col., 2003).

3.7 Factores de Fitorremediación

A continuación, se presentan los resultados correspondientes a los índices de translocación (T_i) y a los factores de bioconcentración para tejido aéreo (FBC_R) y para raíz (FBC_A).

3.7.1 Índice de Translocación

En la presente sección se muestran los valores de índices de translocación de Cu, Mo y S en *A. nummularia*. En las Figuras 6 y 7 se presenta los resultados de la primera y la segunda cosecha respectivamente.

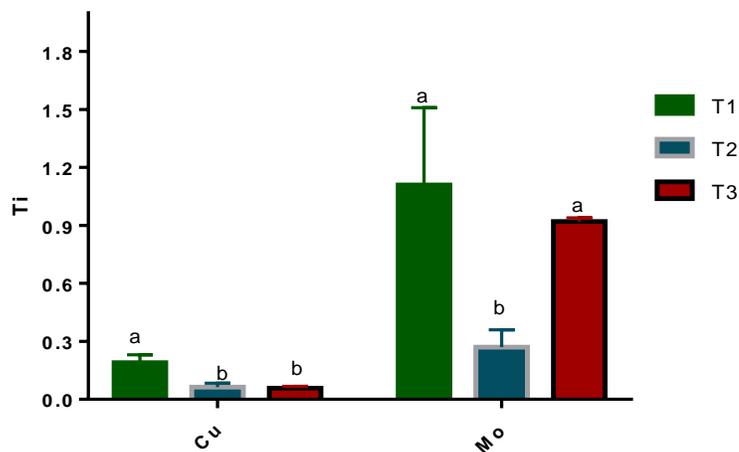


Figura 6. Índice de Translocación de Cu y Mo en *A. nummularia*. Análisis a los 60 días. Valores corresponden a promedio (n=4) \pm desviación estándar. Letras distintas en un factor indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

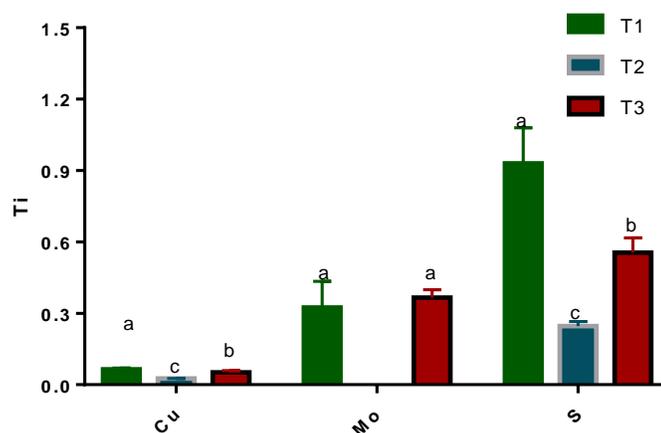


Figura 7. Índice de Translocación de Cu y Mo en *A. nummularia*. Análisis a los 120 días. Valores corresponden a promedio \pm desviación estándar (n=4). Letras distintas en un factor indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Analizando los resultados para la primera cosecha, T1 muestra valores de T_i de Cu significativamente mayores que T2 y T3, mientras que estos no presentan diferencias entre sí. Para Mo, el tratamiento T2 presenta valores de T_i significativamente menor que T1 y T3, mientras que estos no difieren entre sí. Debido a falta de material no fue posible determinar S en raíz para la primera cosecha, no pudiendo determinarse el índice de translocación.

Con respecto a los resultados de la segunda cosecha, para T_i de Cu se observan diferencias significativas entre cada tratamiento, con tendencia $T1 > T3 > T2$. Para el T_i de Mo, T2 presenta valores de concentración en tejido aéreo menores al límite de detección, por lo que no fue posible determinar el índice, mientras que T1 y T3 no presentan diferencias entre sí. En cuanto a los resultados de T_i para S, se tiene la tendencia $T1 > T3 > T2$.

La evaluación del índice de translocación permite identificar si *A. nummularia* acumula los elementos estudiados principalmente en raíz o en tejido aéreo. Valores de $T_i < 1$ indican que la especie vegetal presenta capacidad de fitoestabilización, ya que la acumulación e inmovilización del contaminante es en la raíz, estando el elemento menos expuesto a factores ambientales o biológicos que puedan dispersarlo. Para Cu, en ambas cosechas y en todos los tratamientos se observan valores de $T_i < 1$, lo que implica una tendencia a la acumulación de este metal en raíz por parte de *A. nummularia*. Además, para la segunda cosecha se tiene que T2 presenta el menor T_i . Esto indica que para T2 se observa una mayor capacidad de acumulación en raíz respecto a los otros tratamientos. Con relación a Mo, para la primera cosecha se observa que T1 presenta un $T_i > 1$, mientras que T2 y T3 presentan valores menores a 1.

En el segundo período, los valores de T_i para Mo experimentan una disminución, generando los tres tratamientos valores menores a 1, siendo T2 el que presenta el menor índice de translocación, implicando que este tratamiento también es favorable para la acumulación de Mo en raíz. Finalmente, para S, T1 presenta valores mayores a 1, mientras que T2 y T3 presentan valores menores a 1, siendo T2 el que presenta el menor índice. Para la planta se advierte que existe una tendencia a la acumulación de Cu, Mo y S en raíz,

especialmente en el tratamiento con Perl Humus (T2). Además, comparando los resultados obtenidos para cada elemento se puede observar que el Cu presenta mayor retención en raíz.

3.7.2 Factor de Bioconcentración.

A continuación, se muestran y analizan los resultados para los factores de bioconcentración para tejido aéreo (FBC_A) y para raíz (FBC_R) de Cu, Mo y S.

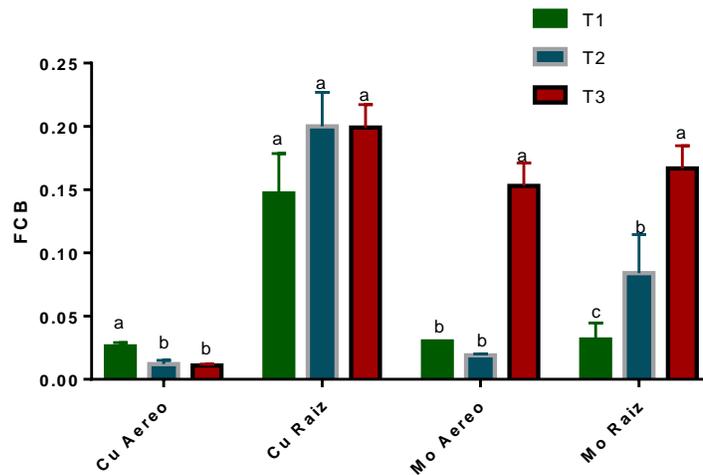


Figura 8. Factor de Bioconcentración de metales para *A. nummularia* en tejido aéreo y raíz.

Análisis a los 60 días. Valores corresponden a promedio ($n=4$) \pm desviación estándar. Letras distintas en un factor indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

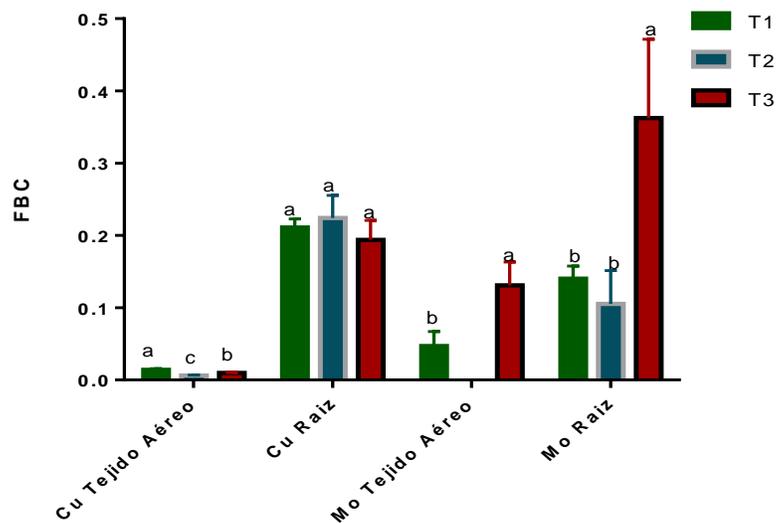


Figura 9. Factor de Bioconcentración de metales para *A. nummularia* en tejido aéreo y raíz. Análisis a los 120 días. Valores corresponden a promedio \pm desviación estándar (n=4). Letras distintas en un factor indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

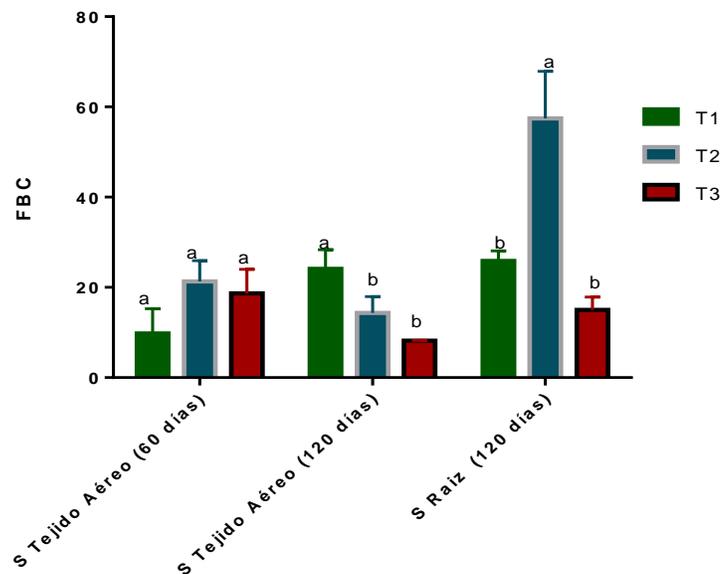


Figura 10. Factor de Bioconcentración de azufre para *A. nummularia*. Valores corresponden a promedio \pm desviación estándar (n=4). Letras distintas en un factor indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey ($p < 0,05$).

Analizando los resultados de FBC_A de la primera cosecha (Figura 8), para Cu es el tratamiento T1 el que presenta valores significativamente mayores que los otros tratamientos, mientras que para Mo es en T3 donde se obtuvieron los mayores valores de FBC_A . Para S no se observan diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 10).

Con respecto al segundo período de estudio para el análisis de FBC_A (Figura 9), los resultados de Cu muestran la tendencia $T1 > T3 > T2$, mientras que para Mo el tratamiento T3 es significativamente mayor que T1. En el caso de S se tiene que T1 presenta valores significativamente mayores que T2 y T3 (Figura 10). No se pudo determinar FBC_A para Mo en T2 debido a que el análisis de concentración en tejido aéreo mostró resultados bajo el límite de detección.

En relación con el parámetro FBC_R en la primera cosecha (Figura 8), para Cu no se encuentran diferencias entre los tratamientos, mientras que para Mo se presentan diferencias significativas con la tendencia $T3 > T2 > T1$.

Los resultados de FBC_R en la segunda cosecha (Figura 9) muestran que para Cu no se muestran diferencias significativas, mientras que para Mo el tratamiento T3 presenta valores significativamente mayores que T2 y T1. Para S, los valores obtenidos para T2 son significativamente mayores que T1 y T3 (Figura 10). Cabe destacar que los valores de FBC para S son mayores a 1 en todos los tratamientos, lo que indica una gran absorción de este elemento desde el medio hacia los tejidos vegetales de *A. nummularia*.

Al igual que T_i , el factor de bioconcentración es un indicador de la capacidad de fitoestabilización de una especie vegetal y, en particular, de su potencial de acumular un contaminante desde el suelo o relave. Una mayor capacidad de fitoestabilización se verifica mediante valores de $FBC_A < 1$ y $FBC_R > 1$ indicando que el contaminante se absorbe desde el medio y se acumula principalmente en raíz (Mendez y Maier, 2007a; Zou y col, 2012).

Los resultados obtenidos muestran que para Cu los valores de FBC son menores a 1, lo que implica una baja bioacumulación de Cu para *A. nummularia*. Sin embargo, los resultados muestran que la bioacumulación en tejido aéreo es mayor en el tratamiento

control (T1). En relación con Mo, se encuentran valores de $FBC < 1$. El tratamiento T3 presenta valores de FBC de Mo, tanto para raíz como para tejido aéreo, mayores que T1 y T2, indicando mayor bioacumulación de este metal en los tejidos vegetales.

En el caso de S, T2 presenta los menores valores para T_i , y los mayores para FBC_R , mientras que no presenta diferencias con T3 para FBC_A . Además, los valores de FBC son mayores a 1, lo que indica una gran absorción de S desde el suelo, inmovilizándolo en el tejido vegetal, principalmente en raíz para el tratamiento T2 ($FBC_A < FBC_R$).

Los resultados analizados indican que los tratamientos con materia orgánica aumentan la capacidad de fitoestabilización de *A. nummularia* respecto al tratamiento control. Esto, debido a que se cumplen las principales condiciones para establecer una fitoestabilización eficiente, que son: mayor generación de biomasa, mayor crecimiento radicular, baja translocación hacia tejido aéreo y acumulación en raíz (Zou y col, 2012). En particular, el tratamiento con Perl Humus (T2) presenta mayor tendencia a la fitoestabilización del relave respecto a Cu y S, debido a los bajos índices de translocación que implican una acumulación en raíz por sobre tejido aéreo. Además, para S se encontró altos índices de bioacumulación en raíz, observado en los valores de FBC_R , lo que asegura la absorción e inmovilización de este elemento en raíz. Para Mo, el tratamiento T3 presenta ventajas sobre los otros, en términos de bioacumulación del metal, debido a los mayores valores de FBC, tanto en tejido aéreo como raíz. Sin embargo, a partir de los resultados de los índices de translocación, se establece que es en el tratamiento T2 donde se presenta una acumulación favorable de Mo en raíz. Esto indica que ambas enmiendas orgánicas presentan ventajas para la fitoestabilización del relave con respecto a Mo, Perl Humus con una baja translocación hacia el tejido aéreo y compost con una mayor bioacumulación del metal.

En general la fitoestabilización se ha utilizado para la generación de una cubierta vegetal en zonas altamente contaminadas y fitotóxicas y, en particular, se ha observado que es una técnica eficiente para la remediación de relaves provenientes de la minera del Cu (Santibañez y col, 2008). En La fitorremediación de relaves mineros para la

estabilización de S es de importancia debido a la abundancia de pirita y su relación con la acidez y la posible contaminación de cuerpos de aguas.

En suelos con toxicidad por sulfato, la fitorremediación ha sido recomendada como un método eficiente para su tratamiento (Ruiz et al., 2003). En general, son varios los estudios que han demostrado que las plantas del género *Atriplex*, y en particular de la especie *A. halimus*, junto con la aplicación de enmiendas orgánicas, favorecen la capacidad de fitoestabilización para suelos contaminados con metales pesados (Pérez-Esteban y col, 2013).

Mediante los análisis de concentración y la obtención de los factores de fitorremediación para Cu, Mo y S, en este estudio se demostró que la incorporación de enmiendas orgánicas a relaves mineros aumenta la capacidad de fitoestabilización de *A. nummularia* en relación a Cu, Mo y S. En particular, la adición de Perl Humus presenta mayores ventajas para la fitoestabilización del relave en relación a Cu y S, los elementos que están presentes en mayor proporción en el relave estudiado.

IV. CONCLUSIONES

Según lo analizado en este Seminario de Título, se puede concluir lo siguiente:

- El relave minero estudiado presenta altas concentraciones de Cu total (974 mg kg⁻¹), Mo total (86,5 mg kg⁻¹) y S extraíble (2209 mg kg⁻¹) en comparación a los valores encontrados para suelos no contaminados.
- La adición de Perl Humus y compost aumenta las concentraciones de NPK respecto a las del relave, alcanzando niveles óptimos para el crecimiento vegetal. La adición de compost tiene un efecto importante sobre el pH, provocando su aumento desde 6,3 a 7,7 respecto al relave, mientras que la adición de Perl Humus aumenta la CE del relave desde 3,8 dS m⁻¹ a 12,5 dS m⁻¹. Este valor de CE es un impedimento para el cultivo de otras plantas. Sin embargo, esta alta salinidad se considerada adecuada para el cultivo de *Atriplex nummularia*.
- La adición de enmiendas orgánicas permite una mayor producción de biomasa en *A. nummularia*, tanto en tejido aéreo como en raíz, respecto al tratamiento control. La adición de Perl Humus al relave permite una mayor generación de tejido aéreo que la adición de compost.
- La adición de compost en el relave produce un aumento en la concentración de Cu extraíble por DTPA, mientras que la adición de Perl Humus no produjo efectos significativos. Es posible que esto se deba a la formación de complejos de Cu con materia orgánica disuelta que facilita la extracción de este elemento.
- La concentración de Mo disponible experimenta un aumento ante la aplicación de compost, lo que es atribuible al mayor pH de este tratamiento, lo que incrementa la movilidad de este elemento.
- El tejido aéreo de *Atriplex nummularia* presenta concentraciones de Cu (7,3 – 21,9 mg kg⁻¹) y Mo (1,0 – 3,0 mg kg⁻¹) que no indican niveles tóxicos para los

tratamientos que incorporan Perl Humus y compost, excepto para el nivel de Mo con la adición de compost ($10,22 \text{ mg kg}^{-1}$) a los 120 días de ensayo.

- *Atriplex nummularia* presenta concentraciones de S en tejido vegetal ($7319 - 24452 \text{ mg kg}^{-1}$) que superan el promedio para cultivos agrícolas, sin afectar su crecimiento. Por lo tanto, esta especie es recomendable para la remediación de suelos con altos niveles de S.
- La adición de Perl Humus produce una mayor acumulación de Cu para raíz, en *Atriplex nummularia* mientras que la incorporación de compost produce una mayor absorción de Mo, tanto para tejido aéreo como para raíz. Con respecto al S, las enmiendas orgánicas no presentan un efecto claro en la concentración de este elemento, mientras que la adición de Perl Humus produce un mayor contenido total de S, con acumulación en raíz.
- A partir de los resultados obtenidos se establece que la incorporación de enmiendas orgánicas al relave minero de este estudio incrementa la capacidad de de *Atriplex nummularia* para la fitoestabilización de relaves mineros, con relación a Cu, Mo y S. En particular, la adición de Perl Humus presenta ventajas sobre el compost en términos de la capacidad de *Atriplex nummularia* para la fitoestabilización del relave, en relación con Cu y S.

V. REFERENCIAS

- Adriano, D. C. 1986. Trace elements in the terrestrial environment. Springer Verlag Berlin Heidelberg. New York. pp 329-355.
- Alloway, B. J. 2010. Heavy metals in soil: Trace metals and metalloids in soils and their bioavailability. Springer. London. pp 367-535.
- Alonso, J. L. 1990. Reforestation of arid and semi-arid zone in Chile. *Agric Ecosyst Environ.* **33**: 111-127.
- Antonadis, V. and Alloway, B. J. 2002. The role of dissolved organic carbon in the mobility of Cd, Ni, and Zn in sewage sludge-amended soils. *Environ Pollut.* **117**: 515-521.
- Asensio, V., Covelo, E. F. and Kandeler, E. 2013. Soil management of copper mine tailing soil- sludge amendment and tree vegetation could improve biological soil quality. *Sci. Total Environ.* **456-457**: 82-90.
- Bashour, I. I. y Sayegh, H. A. 2007. Methods of analysis for soils of arid and semi-arid regions. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- Bernier, V. 2000. Diagnóstico de la fertilidad del suelo. Centro de Investigaciones Remehue. INIA.
- Brown, S. L., Henry, C. L., Chaney, R., Compton, H. and DeVolder, P. S. 2003. Using municipal biosolids in combination with other residuals to restore metal-contaminated mining areas. *Plant Soil.* **249**: 203-215.
- Choukr-Allah, R., Hamdy, A., y Malcolm, C. V. 1996. Halophytes and biosaline agricultura. M. Dekker.
- CODELCO ANDINA, ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL.
- Córdova, K. N. 2010, Aplicación de enmiendas orgánicas con distinta relación C/N a relaves mineros: Implicancias en el crecimiento de *Acacia caven* (Mol.) y en la actividad microbiana. (Tesis para optar al Título de Ingeniero Forestal). Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Departamento de Silvicultura.
- Dudka, S., Adriano, C. 1997. Environmental impacts of metal ore mining and processing: A review. *J. Environ. Qual.* **26**: 590-602.
- Eriksen, J., Murphy, M. D. y Schnug, E. 1998. The soil Sulphur cycle. En Schnug, E. (1998) Sulphur in Agroecosystems. Springer Science. pp 39-73.

- Ginocchio R. y León-Lobos, P. 2011. Fitoestabilización de depósitos de relaves en Chile. Guía N° 1: Metodología General.
- Ginocchio R. y León-Lobos, P. 2011. Fitoestabilización de depósitos de relaves en Chile. Guía N° 2: Aplicación Sustentable de Acondicionadores
- Ginocchio R. y León-Lobos, P. 2011. Fitoestabilización de depósitos de relaves en Chile. Guía N° 3: Flora y Vegetación Asociadas a Relaves Mineros Abandonados.
- Hooda, S. P. 2010. Trace Elements in Soil. John Wiley and Sons, inc. West Sussex. pp 441-523.
- Jolly, J. W. L. 1985. Bureau of Mines mineral facts and problems. U.S Department of the Interior, Bureau of Mines, Washington, DC.
- Jones, J. B. 2012. Plant Nutrition and Soil Fertility Manual. CRC Press. 304 p.
- Jordan, F. L., Robin-Abbott, M., Maier, R. and Glenn, E. P. 2002. A Comparison of Chelator-Facilitated Metal Uptake by a Halophyte and a Glycophyte. *Environ Toxicol Chem.* **21**: 2698-2704.
- Jurjovec, J., Ptacek, C. and Blowes, D. 2001. Acid neutralization mechanism and metal release in mine tailings: A laboratory column experiment. *Geochim Cosmochim Ac.* **66**: 1511-1523.
- Kabata-Pendias, A. 2011. Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press. Boca Raton. pp 190-266.
- Kabata-Pendias, A. and Mukherjee, A. 2007. Trace elements from soil to human. New York. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York. pp 184-268.
- Karami, N., Clemente, R., Moreno-Jiménez, E., Lepp, N. W. and Beesley, L. 2011. Efficiency of green waste compost and biochar soil amendments for reducing lead and copper mobility and uptake to ryegrass. *J Hazard Mater.* **191**: 41-48.
- Khan, T. O. 2013. Soils principles, properties and management. Springer. New York. pp 89-95
- Kossoff, D., Dubbin, W. E., Alfredsson, M., Edwards, S. J., Macklin, M. G. and Hudson-Edwards, K. A. 2014. Mine tailings dams: Characteristics, failure, environmental impacts and remediation. *Appl. Geochem.* **51**: 229-245.
- Lagos, G., Blanco, H., Torres, V. y Busto, B. 2001. Minería y minerales en Chile en la transición hacia el desarrollo sustentable MMSD- Chile.
- Lobos, M. J. 2008. Efectividad de Biosólidos para la fitoestabilización de un traque de relaves minero, en la comuna de Nogales. (Tesis para optar al Título de

Ingeniero Forestal). Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales, Departamento de Silvicultura.

- MacCarthy, P. 2001. The principles of humic substances: an introduction to the first principle. En Ghabbour, E. A. and Davies. G. (2001). Humic Substances: Structures, models and functions. Royal Society of Chemistry.
- Manousaki, E. and Kalogerakis, N. 2011. Halophytes – an emerging trend in phytoremediation. *Int J Phytoremediation*. **13**: 959-969.
- McGrath, S. P., Sanders, J. R. and Shalaby, M. H. 1988. The effects of soil organic matter levels on soil solution concentrations and extractabilities of manganese, zinc and copper. *Geoderma*. **42**: 177-188.
- Mendez, M. and Maier, R. 2007a. Phytoremediation of mine tailings in arid and semiarid environments: An emerging remediation technology. *Rev. Environ Health Perspect*. **116**: 278-283.
- Mendez, M. and Maier, R. 2007b. Phytoremediation of mine tailings in temperate and arid environments. *Rev. Environ Sci Biotechnol*. **7**: 47-59.
- Narwal, R. P., Singh, B. R. 1998. Effect of organic material on partitioning, extractability and plant uptake of metals in an alum shale soil. *Water Air Soil Poll*. **103**: 403-421.
- Navarro, S y Navarro, G. 2003 Química Agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. Mundi Prensa. Madrid. pp 273-291.
- Norman, H. C., Masters, D. G., Wilmot, M. G., and Rintoul, A. J. 2007. Effect of supplementation with grain, hay or Straw on the performance of weaner Merino sheep grazing old man (*Atriplex nummularia*) or river (*Atriplex amnícola*) saltbush. *Grass Forage Sci*. **63**: 179-192.
- Orchard, C., Lobos, P. y Ginocchio, R. 2009. Phytostabilization of massive mine wastes with native phylogenetic resources: potential for sustainable use and conservation of the native flore in north-central Chile. *Cien Inv Agr*. **36**: 329-352
- Ormazábal, C. S. 1991. Silvopastoral systems in arid and semiarid zones of northern Chile. *Agrofor Syst*. **14**: 207-217.
- Ortiz-Calderón, C., Alcaide, O. and Li-Kao, J. 2008. Distribución de cobre en hojas y raíces de plantas que crecen sobre relaves mineros de cobre en el norte de Chile. *Rev. Chil Hist Nat*. **81**: 489-499.

- Pérez-Esteban, J., Consuelo, E., Ruiz-Fernández, J., Masaguer, A., Moliner, A. 2013. Bioavailability and extraction of heavy metals from contaminated soil by *Atriplex halimus*. *Environ Exp Bot.* **88**: 53-59.
- Quezada, C., Stolpe, N. B. 2016. Uso de enmiendas orgánicas y químicas para la remediación de suelos inundados por el tsunami de 2010 en la zona de Tomé, Chile. *Chilean J. Agric. Anim. Sci.* **32**: 13-22.
- Riedemann, P., Aldunate, G. y Teillier, S. 2006. Flora nativa de valor ornamental. Zona Norte. Ediciones Chagual. Santiago, Chile
- Rodríguez-Vila, A., Covela, E. F., Forján, R. and Asensio, V. 2014. Phytoremediating a copper mine soil with *Brassica juncea* L., compost and biochar. *Environ Sci Pollut Res.* **21**: 11293-11304.
- Ruiz, J. M., López-Cantarero, I., Rivero, R. M., y Romero, L. 2003. Sulphur phytoaccumulation in plant species characteristic of Gypsiferous soils. *Int J Phytoremediation.* **5**: 203-210.
- Sadzawka, A., Carrasco, M. A., Grez, R. Mora, M., Flores, H. y Neaman, A. 2006. Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile. Comisión Nacional de Normalización y Acreditación. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Santiago, Chile.
- Sadzawka, A., Carrasco, M. A., Demanet, A., Grez, R. Mora, M., Flores, H. y Neaman, A. 2007. Métodos de análisis de tejidos vegetales. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Santiago, Chile.
- Sadzawka, A., Carrasco, M. A., Grez, R. y Mora, M. 2005. Métodos de análisis de compost. Comisión Nacional de Normalización y Acreditación. Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Santiago, Chile.
- Sánchez, E. A., Campos, M. A. 2011. Manual de procedimientos analíticos para suelos y plantas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx.
- Santibañez, C., Verdugo, C. y Ginocchio, R. 2008. Phytostabilization of copper mine tailings with biosolids: Implications for metal uptake and productivity of *Lolium perenne*. *Sci. Total Environ.* **395**: 1-10.
- Santibañez, C., Ginocchio R. y Brown., S. 2011. Fitoestabilización de depósitos de relaves en Chile. Guía N° 2: Aplicación sustentable de acondicionadores. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro de Investigación Minera y Metalúrgica.

- Sernageomin. 2013. Guía de Buenas Prácticas Ambientales para la Pequeña Minería.
- Sernageomin. 2015. Anuario de la Minería de Chile 2015.
- Sernageomin. 2015. Guía Metodológica para la Estabilidad Química de Faenas e Instalaciones Mineras.
- Stevenson, F. J. 1994. Humus Chemistry. Ed. John Wiley and sons, inc. NY.
- Su, D. C., Wong, J. W. C. 2003. Chemical speciation and phytoavailability of Zn, Cu, Ni and Cd in Soil amended with fly ash-stablized sewage Sludge. *Environ Int.* **29**: 895-900.
- Tan, K. H. 2010. Principles of Soil Chemistry. CRC Press. Boca Raton.
- Tan, K. H. 2014. Humic Matter in Soil and the Environment. Principles and controversies. CRC Press. Boca Raton. pp 75-130.
- Tapia, Y., Diaz, O., Pizarro, C., Segura, R., Vines., M., Zúñiga, G. y Moreno-Jiménez. 2013. *Atriplex atacamensis* and *Atriplex halimus* resist As contamination in Pre-Andean soils (northern Chile). *Sci. Total Environ.* **450-451**: 188-196.
- Torres, C. M. 1999. Efecto de distintas especies y procedencias arbustivas del género *Atriplex* sobre el estrato herbáceo asociado en el secano costero árido de la IV Región.
- Wichard, T., Mishra, B., Myneni, S. C. B., Bellenger, J. and Kraepiel, A. M. L. 2009. Storage and bioavailability of molybdenum in soils increased by organic matter complexation. *Nat Geosci.* **2**: 625-629.
- Wong, M. H. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere.* **50**: 775-778.
- Wright, A. L., Provin, T. L., Hons, F. M., Zuberer, D. A. and White, R. H. 2008. Compost impacts on dissolved organic carbon and available nitrogen and phosphorus in turfgrass soil. *Waste Manag.* **28**: 1057-1063.
- Zanuzzi, A., Arocena, J. M., van Mourik, J. M. and Cano, A. 2009. Amendments with organic and industrial wastes stimulate soil formation in mine tailings as revealed by micromorphology. *Geoderma.* **154**: 69-75.
- Zou, T., Li, T. y Zhang, X. 2012. Lead accumulation and Phytostabilization potential of dominant plant species growing in a lead-zinc mine tailing. *Environ Earth Sci.* **65**: 621-630

VI. ANEXOS

6.1 Índices de Translocación

Tabla 18: Índice de Translocación de Cu y Mo para *A. nummularia*.
Análisis a los 60 días.

Tratamientos	Ti Cu	Ti Mo
T1	0,19 ± 0,04 a	1,11 ± 0,04 a
T2	0,063 ± 0,02 b	0,27 ± 0,09 b
T3	0,058 ± 0,01 b	0,92 ± 0,02 a

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey (p < 0,05).

Tabla 19: Índice de Translocación de Cu y Mo para *A. nummularia*.
Análisis a los 120 días.

Tratamientos	Ti Cu	Ti Mo	Ti S
T1	0,065 ± 0,005 a	0,32 ± 0,11 a	0,93 ± 0,15 a
T2	0,026 ± 0,004 c	±	0,25 ± 0,02 c
T3	0,052 ± 0,007 b	0,37 ± 0,03 a	0,55 ± 0,06 b

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey (p < 0,05).

6.2 Factores de Bioconcentración

Tabla 20: Factor de Bioconcentración en tejido aéreo y raíz de *A. nummularia* para Cu y Mo. Análisis a los 60 días.

Tratamientos	Cu Aéreo	Cu Raíz	Mo Aéreo	Mo Raíz
T1	0,026 ± 0,003 a	0,15 ± 0,03 a	0,0300 ± 0,0004 b	0,032 ± 0,013 b
T2	0,012 ± 0,003 b	0,20 ± 0,03 a	0,019 ± 0,001 b	0,084 ± 0,030 b
T3	0,011 ± 0,001 b	0,20 ± 0,02 a	0,15 ± 0,02 a	0,17 ± 0,02 a

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey (p < 0,05).

Tabla 21: Factor de Bioconcentración en tejido aéreo y raíz *A. nummularia* para Cu y Mo. Análisis a los 120 días.

Tratamientos	Cu Aéreo	Cu Raíz	Mo Aéreo	Mo Raíz
T1	0,014 ± 0,002 a	0,21 ± 0,01 a	0,047 ± 0,02 b	0,14 ± 0,02 b
T2	0,0059 ± 0,0009 c	0,22 ± 0,03 a	b	0,10 ± 0,05 b
T3	0,0099 ± 0,0005 b	0,19 ± 0,03 a	0,13 ± 0,03 a	0,36 ± 0,11 a

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey (p < 0,05).

Tabla 22: Factor de Bioconcentración en tejido aéreo y raíz *A. nummularia* para S.

Tratamientos	S Aéreo	S Aéreo	S raíz
	60 días	120 días	
T1	9,8 ± 5,5 a	24,1 ± 4,2 a	25,8 ± 2,2 b
T2	21,3 ± 4,6 a	14,3 ± 3,6 b	57,5 ± 10,4 a
T3	18,7 ± 5,3 a	8,2 ± 0,1 b	15,0 ± 2,8 b

Valores corresponden a promedio (n=4) ± desviación estándar. Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas según Test de Tukey (p < 0,05).