

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

EVALUACIÓN DE *Chrysopogon zizanioides* Y LA APLICACIÓN DE ENMIENDA
ÓRGANO-MINERAL COMO ESTRATEGIA DE FITOESTABILIZACIÓN EN SUELOS
IMPACTADOS POR RELAVES MINEROS.

PABLO CESAR CUZMAR GRIMALT

SANTIAGO, CHILE
2017

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

EVALUACIÓN DE *Chrysopogon zizanioides*, Y LA APLICACIÓN DE ENMIENDA
ÓRGANO-MINERAL COMO ESTRATEGIA DE FITOESTABILIZACIÓN EN SUELOS
IMPACTADOS POR RELAVES MINEROS.

EVALUATION OF *Chrysopogon zizanioides*, AND THE APPLICATION OF AN ORGANIC-
MINERAL AMENDMENT AS A PHYTOESTABILIZATION STRETEGY ON SOILS
IMPACTED BY MINE WASTES.

PABLO CESAR CUZMAR GRIMALT

SANTIAGO, CHILE
2017

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS ESCUELA DE
PREGRADO

EVALUACIÓN DE *Chrysopogon zizanioides* Y LA APLICACIÓN DE ENMIENDA
ÓRGANO-MINERAL COMO ESTRATEGIA DE FITOESTABILIZACIÓN EN SUELOS
IMPACTADOS POR RELAVES MINEROS.

Memoria para optar al título
Profesional de Ingeniero Agrónomo

PABLO CESAR CUZMAR GRIMALT

PROFESOR GUÍA

CALIFICACIONES

Yasna Tapia F.
Ing. Alimentos, Dra.

6,5

PROFESORES EVALUADORES

Manuel Paneque C.
Bioquímico, Dr.

6,5

Marcela Medel M.
Ingeniera Agrónoma, Dra.

5,8

SANTIAGO, CHILE
2017

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer en primer lugar a mis padres Ricardo Cuzmar y Lucía Grimalt por su apoyo, consejos y formación que me llevaron a estudiar y perseguir una carrera universitaria.

Agradecer también a mi profesora guía Yasna Tapia por su disposición a ayudarme y confiarme el presente trabajo

Mencionar al personal de laboratorio y guías de tesis, que me ayudaron bastante en los análisis (Benjamín, Edouard, Señora Marisol, Señora Consuelo).

A mis amigos y colegas del laboratorio que me ayudaron en todo el ensayo, mencionare a los mas presente debido a la cantidad de miembros (Mitchel, Pablo, María Paz, Tamara, Cokkie, Nelson etc.).

Finalmente a mi polola Daniela por regarme las plantas en mi estadía en Brasil, y a todos los amigos de la universidad y gente del basketball.

A todos Muchísimas gracias, porque sin su ayuda no se habría materializado este estudio.

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Objetivo general:	4
Objetivos específicos:	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Lugar del estudio	6
Materiales	6
Métodos	7
Tratamientos y diseño experimental	7
Determinación de propiedades químicas de los suelos	9
Cálculo de factor de enriquecimiento (FE):	10
Evaluaciones de las plantas	11
Cálculos de índices de transporte a la parte aérea:	11
Análisis Estadístico:	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
1.- Propiedades químicas de los suelos	13
2.- Concentraciones totales de cobre, molibdeno y azufre iniciales en los suelos	14
2.1.-Factor de enriquecimiento de metales y azufre en suelos impactados por relaves mineros	15
3.- Cobre, molibdeno y azufre en los suelos con los tratamientos	15
4.- Concentraciones de cobre, molibdeno y azufre en plantas	16
4.1.-Cobre, molibdeno y azufre en parte aérea	16
4.2.- Cobre, molibdeno y azufre en raíces	17
5.- Índices de Fitorremediación	18
5.1.- Índice de Transporte a la parte aérea	18
5.2.- Porcentaje de Fitoextracción	19
6.- Biomasa	20
CONCLUSIONES	23
BIBLIOGRAFÍA	24
ANEXOS	27

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.- Concentraciones iniciales de Cu, Mo y azufre en plantas	7
Cuadro 2.- Características químicas agua de riego invernadero	8
Cuadro 3.- Tabla de temperaturas Junio-Diciembre 2016.....	8
Cuadro 4.- Tratamientos del ensayo de Fitoestabilización con plantas de Vetiver	9
Cuadro 5.- Interpretación del Factor de Enriquecimiento (Varol y Bulent, 2012).....	10
Cuadro 6.- Principales propiedades químicas de los suelos de la localidad de Huechún.....	13
Cuadro 7.- Caracterización inicial enmienda órgano-mineral.....	13
Cuadro 8.- Concentraciones totales de Cu, Mo y concentración disponible de S en suelos impactados y sin impactar de la localidad de Huechún.....	14
Cuadro 9.- Factor de enriquecimiento respecto al Cu; Mo total y S disponible en suelo impactado	15
Cuadro 10.- Concentraciones de Cu, Mo, S en suelos según tratamiento y tiempo.....	16
Cuadro 11.- Concentraciones de Cu, Mo y S en parte aérea de las plantas según tratamiento y tiempo	17
Cuadro 12.- Concentraciones de Cu, Mo y S en raíces de las plantas según tratamiento y tiempo	18
Cuadro 13.- Transporte de Cu, Mo y S a los 60 y 120 días de ensayo.....	18
Cuadro 14.- Porcentaje de Fitoextracción de Cu, Mo y S a los 60 120 días de ensayo	19
Cuadro 15.- Materia seca, altura de plantas y número de hojas 60 y 120 días post enmienda en suelo.....	20

INDICE DE FIGURAS

Figuras 1: Suelo impactado, localidad de Huechún.	6
Figuras 2: Materia seca (g) de Vetiver para los distintos por tratamientos después de 120 días de ensayo (n = 4).	21
Figuras 3: Altura (cm) de la planta promedio total indistinta de tratamiento (n = 36), desde establecimiento hasta 120 días post enmienda.	21

RESUMEN

En el presente estudio se evaluaron muestras de suelos impactados por un derrame de relaves mineros, ocurrido en abril de 2016, en el sector de Huechún ubicado en la comuna de Til Til, región Metropolitana. El objetivo general fue evaluar la capacidad de fitoestabilización de azufre (S), cobre (Cu) y molibdeno (Mo) con el uso de *Chrysopogon zizanioides* (Vetiver), establecida en un suelo impactado por relave minero, con la aplicación de una enmienda órgano-mineral, de origen comercial (Quick-Sol). Se determinaron las principales propiedades químicas de los suelos impactados y se determinó el Factor de Enriquecimiento (FE) de Cu, Mo y S como indicador de contaminación. Se estableció un ensayo con plantas de Vetiver, en macetas de 5 litros con la aplicación de la enmienda en dosis de 400 L ha⁻¹ y 800 L ha⁻¹. El ensayo se mantuvo durante 120 días en condiciones de invernadero y riego con agua potable.

Los resultados indican que el suelo impactado por relaves mineros registró un FE menor de Cu, una ausencia de enriquecimiento en Mo y para S el FE indicó una contaminación moderada. Después de 60 días se observó un aumento considerable en los niveles de S extraíble en suelo, probablemente debido a la oxidación de pirita presente en el relave, dicho aumento se mantuvo a los 120 días del ensayo. Para los resultados de la enmienda órgano-mineral, se observaron efectos atribuibles a ésta en el Índice de Transporte (Ti), Porcentaje de Fitoextracción (PF) y S disponible en suelo de macetas. Respecto a las plantas, para la parte aérea a los 60 días las concentraciones promedio de los tratamientos fueron: Cu 19,7 mg kg⁻¹; Mo 1,43 mg kg⁻¹ y S 2045 mg kg⁻¹, a los 120 días las concentraciones promedio fueron: Cu 7,73 mg kg⁻¹; Mo 0,43 mg kg⁻¹ y S 1708 mg kg⁻¹. Al ser comparadas con los niveles reportados en literatura Cu 5-20 mg kg⁻¹ (Havlin *et al.*, 2014); Mo <1 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2011) y S 1400-4500 mg kg⁻¹ (Brady y Weil, 2008), se observaron rangos normales de concentración en tejido foliar.

Vetiver mostró niveles de (Ti) de Cu y Mo menores a uno, en consecuencia se observa una capacidad de fitoestabilización de estos metales. Mientras que para el S, demostró ser tolerante a ambientes moderadamente contaminados por este elemento. Respecto a la biomasa de Vetiver, la enmienda órgano-mineral no evidenció favorecer su generación e incluso la biomasa fue menor en comparación con estudios similares, lo que es atribuible a factores de stress por temperatura y confinamiento en la maceta. El efecto de la enmienda órgano-mineral, no fue significativo para potenciar la capacidad de fitoestabilización de la planta.

En base a los resultados de este estudio, se recomienda Vetiver para el establecimiento de cobertura vegetal en ambientes moderadamente contaminados por S, con el objetivo de llevar a cabo una estrategia de fitoestabilización.

ABSTRACT

On the present study was evaluated samples of soils impacted by mine wastes that occurs in April 2016, on the Huechún sector located in the commune of Til Til, Metropolitan region. The main objective was to evaluate the phytostabilization capability of sulphur (S), copper (Cu) and molybdenum (Mo) of *Chrysopogon zizanioides* (Vetiver), established on soil impact by mine wastes, with the application of an organic-mineral amendment (Quick-Sol). It was determined the main chemical properties of the impacted soils and also was determined the Enrichment Factor (EF) of Cu, Mo and S as a contamination indicator. It was established a Vetiver plants experiment, on 5 liters pots with an amendment doses of 400 L ha⁻¹ y 800 L ha⁻¹. The experiment was kept for 120 days under greenhouse conditions and irrigated with drinkable water.

The results indicates that the impact soil by mine wastes show a minor EF of Cu, and an absent of enrichment on Mo, finally for S the EF reveals a moderate contamination. After 60 days it was observed an considerable raise on the levels of available S of the soil, probably due to the oxidation of pyrite present in the mine waste, these raise was kept on going for the 120 days of the experiment. Respect to the results of the organic-mineral amendment, it was show effects due to its action on the Transportation Index (Ti), Phytostabilization Percentage (PP) and S available on pots soils. In plants, for the aerial part at the 60 days, the treatment average concentrations was: Cu 19,7 mg kg⁻¹; Mo 1,43 mg kg⁻¹ y S 2045 mg kg⁻¹, for the 120 days the average concentration were: Cu 7,73 mg kg⁻¹; Mo 0,43 mg kg⁻¹ y S 1708 mg kg⁻¹. These concentrations were compare with the levels show on literature Cu 5-20 mg kg⁻¹ (Havlin et al., 2014); Mo <1 mg kg⁻¹ (Kabata-Pendias y Mukherjee, 2011) y S 1400-4500 mg kg⁻¹ (Brady y Weil, 2008), and therefore the levels on the plants were found on a normal range of concentration for vegetal tissues.

Vetiver show levels of Ti of Cu and Mo minor to one, demonstrating a phytostabilization capability of these elements. For S the results show that Vetiver is tolerant a moderate levels of contamination for these element. On The biomass of Vetiver, the organic-mineral amendment do not show enhance the generation of it and even the biomass was lower in comparison with other similar experiments, these results are attributable to temperature stress and confinement on pots. The organic-mineral amendment effect, in general, was not significant in enhance the phytostabilization capability of the plants.

Base on the results of these study, it is recommended Vetiver for the establishment of a vegetal cover on S moderate contaminate environments, with the objective of carry out a phytostabilization strategy.

INTRODUCCIÓN

En Chile la actividad económica que genera un mayor ingreso país es la minería del cobre (Cu). En el año 2014 se exportó US 37969 millones del metal, correspondientes a 5739 miles de toneladas, equivalente a un 50% de la exportaciones totales del país (SERNAGEOMIN, 2014). Estas faenas mineras remueven un gran volumen de rocas, para obtener el mineral de interés, en el caso del Cu resulta en un alto volumen de residuos (Lottermoser, 2010).

Asociado a la actividad minera han ocurrido múltiples accidentes de derrame, recientemente con fecha 20 de abril del 2016, uno de estos derrames afectó los esteros de El Cobre, Chacabuco y suelos de la localidad de Huechún (Región Metropolitana) con arenas de relaves procedentes del Tranque Ovejería ubicado en la misma comuna, eventos como este son un ejemplo de impacto por actividad antrópica, la cual es una de las principales responsables del enriquecimiento de suelos por metales (Mingorance *et al.*, 2007). Las arenas de relave ubicadas en el Tranque Ovejería, según estudios previos presentan una alta concentración de Cu y sulfatos (Tapia, 2015). El Cu incorporado al suelo en niveles altos puede causar toxicidad en plantas, resultando en reducción de vigor, pobre desarrollo de raíces y clorosis (Havlin *et al.*, 2014), por otro lado los sulfatos son altamente susceptibles a procesos de lixiviación a aguas subterráneas y aumentan la salinidad, por último el Mo, elemento asociado al Cu en altas concentraciones puede causar efectos tóxicos en el medioambiente, se ha observado que el exceso de Mo es particularmente dañino para rumiantes que son susceptibles a desarrollar molibdenosis (Skierszkan *et al.*, 2016).

El azufre (S) es un elemento no metálico, abundante en suelos y esencial para las plantas y animales. Sin embargo, es un elemento acidificante. El S está presente en minerales de sulfuro formando piritita, cuando estos minerales son expuestos a oxígeno y agua, el sulfuro se oxida en sulfato generando H^+ . Debido a la formación de H^+ los relaves mineros puede bajar a niveles bajos de pH acelerando la hidrólisis de los minerales acompañantes e incrementando la solubilidad de los contaminantes presentes (Havlin *et al.*, 2014).

La ley N° 20551 en Chile dictamina planes de cierre de faenas mineras, en los cuales se explicita la implementación de condiciones de estabilidad física y química en los lugares de operación de la faena (Decreto 41, 2007), generándose de esta manera una necesidad de crear diagnósticos de contaminación en los sitios afectados. Para estimar el grado de contaminación de sedimentos o suelos se utilizó en este estudio el factor de enriquecimiento. Este índice por medio de la concentración de elementos presentada naturalmente, conocida como nivel de fondo o background (Hernández-Crespo y Martín, 2015), permite comparar niveles de elementos en suelos no contaminados y contaminados, entregando información para posibles manejos posteriores (Varol y Bulent, 2012).

Existen varias alternativas de manejo para suelos impactados por relaves mineros, en este estudio se evaluó la fitoestabilización. Esta estrategia consiste en el uso de plantas que retienen el contaminante en el área de raíces evitando su paso a aguas subterráneas, además mediante una cobertura vegetal se disminuye la susceptibilidad de dispersión de contaminantes por el viento o el agua. La fitoestabilización conlleva un menor costo de implementación que los métodos de tratamientos convencionales (Ginocchio y León-Lobos, 2007), junto con esto algunos metales pueden ser reciclados (Chaney *et al.*, 1997). Otra ventaja de este método, es la capacidad de cubrir grandes extensiones de terreno, además se logra aumentar su eficiencia, mediante la adición de nuevas plantas metalófitas y enmiendas (Orchard *et al.*, 2009) introducidas al sistema después de su implementación. Para estudiar la extracción de metales desde el suelo impactado y el movimiento de elementos desde las raíces a la parte aérea se utilizó en este estudio el Porcentaje de Fitoextracción (PF) y el Índice de Transporte (Ti), ambas herramientas descritas en literatura científica para estudios de fitoestabilización (Ansari, 2015). Una de las plantas que ha sido investigada con fines de fitoestabilización es *Chrysopogon zizanioides* (Vetiver), especie que presenta entre sus características un desarrollo en el primer año de raíces profundas (3-4 metros), tallos firmes y erguidos, muy resistente a plagas, enfermedades y fuego, capacidad de generar raíces desde los nudos en caso de ser atrapado por sedimentos y eventualmente formar terrazas, además tolera rangos de pH amplios (3,3 a 12,5) sin enmiendas de suelo, soporta temperaturas desde -15°C a 55°C, cuenta con alta eficiencia de absorción de N, P y metales en aguas contaminadas, tolera salinidad, sodicidad y Mg (Troung; *et al.*, 2009). *Chrysopogon zizanioides* es recomendada para su uso en fitoestabilización y rehabilitación de suelos contaminados por metales, esto debido a la tolerancia a toxicidad causada por metales (Wong, 2003). Una desventaja importante es la necesidad de protección frente al ganado durante sus fases de establecimiento (Troung *et al.*, 2009). A nivel nacional en la ciudad de Arica, la planta Vetiver ha sido utilizada como purificadora de aguas con altos niveles de arsénico y boro, posibilitando la reutilización de estas, como aguas para riego agrícola (Seremi, 2014).

La hipótesis de este estudio postula que la aplicación de una enmienda órgano-mineral al suelo impactado, favorece el desarrollo de biomasa y la capacidad de fitoestabilización de *Chrysopogon zizanioides*.

Objetivo general:

-Evaluar la capacidad de fitoestabilización de azufre, cobre y molibdeno de *Chrysopogon zizanioides*, establecida en suelo impactado por relave minero, con la aplicación de una enmienda órgano-mineral.

Objetivos específicos:

- Evaluar la generación de biomasa y absorción de azufre, cobre y molibdeno en plantas de *Chrysopogon zizanioides*, cultivadas en suelos impactados por relaves mineros con y sin aplicación de una enmienda órgano-mineral.

-Evaluar el factor de enriquecimiento de azufre, cobre y molibdeno de los suelos impactados por el derrame de relaves.

-Comparar el Índice de Transporte y Porcentaje de Fitoextracción de *Chrysopogon zizanioides* con y sin aplicación de la enmienda órgano-mineral.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del estudio

Las muestras de suelos impactados con el relave minero y suelos sin impacto, fueron recolectadas en la zona aledaña al Estero Chacabuco en la localidad de Huechún (33°04'22.56'' S 70°46'41.66'' O) ubicada en la comuna de TilTil, Región Metropolitana, Chile. El suelo corresponde a la Serie de suelos de Huechún de origen aluvio coluvial, profundos, en posición de plano ligeramente inclinado, con o sin microrelieve (CIREN, 1995). La apariencia del suelo impactado por el derrame minero se observa en la Figura 1.



Figuras 1: Suelo impactado, localidad de Huechún.

El suelo impactado por el derrame de relaves fue trasladado a la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile. Los ensayos con plantas se realizaron en el Invernadero de Investigación del Laboratorio de Química de Suelos y Aguas del Departamento de Ingeniería y Suelos. Los análisis químicos se realizaron en el Laboratorio de Química de Suelos y Aguas y en el Laboratorio de Nutrición Vegetal.

Materiales

Se estableció un cultivo de *Chrysopogon zizanioides* (Vetiver) en suelos impactados por relaves, utilizando macetas plásticas de 5 L. Las plantas fueron obtenidas del vivero Vetiver Chile y su composición inicial para hoja y raíz se presenta en el Cuadro 1. Las plantas se adquirieron, con sus raíces sobre un cepellón de sustrato cuyas principales características químicas fueron: nitrógeno (N) 41,7 mg kg⁻¹; fósforo disponible (P) 204 mg kg⁻¹; potasio disponible (K) 846 mg kg⁻¹; materia orgánica (MO) 37,9 % ± 1,11; conductividad eléctrica

(CE) $0,24 \pm 0,01$ y pH $7 \pm 0,02$.

Se aplicó una enmienda comercial, producto órgano-mineral que se presenta en un líquido concentrado llamado Quick-Sol, distribuido por BEYOND INTERNATIONAL, INC. Texas, USA. La ficha técnica del producto declara ser un polímero estable de silicio, derivado de tierra de diatomeas fosilizadas. En su etiqueta declara la siguiente composición: silicio 36%, hidrogeno 33%, oxigeno 22%, sodio 6%, ácido fúlvico 1%, ácido húmico 1%, calcio <1%, cobre <1%, hierro <1%, manganeso <1% y zinc >1%.

Cuadro 1.- Concentraciones iniciales de Cu, Mo y azufre en plantas

Tejido Vegetal	Elemento	Concentración (mg kg-1)
Hojas	Cu	$3,9 \pm 1,94$
	Mo	$0,1 \pm 0,11$
	S	1399 ± 242
Raíces	Cu	$42,3 \pm 16,7$
	Mo	$1,2 \pm 0,21$
	S	2346 ± 478

Resultados corresponden a promedio de datos, \pm precede a la desviación estándar (n = 4).

El instrumental necesario para realizar el ensayo en base a metodologías de Sadzawka et al., 2006 y EPA 1996 es:

- pH-metro Hanna Instruments, modelo HI3221.
- Conductivimetro Oakton, serie 510.
- Espectrofotómetro Hach, modelo DR 5000.
- Espectrofotómetro de absorción atómica PerkinElmer, modelo 3110.
- Espectrofotómetro de emisión atómica de plasma inducida por microondas (MP-AES). Agilent.
- Placa calefactora Thermo Scientific, modelo Cimarec.
- Estufa de secado Wisen Ven, modelo Wisd.
- Balanza analítica Swiss Quality, modelo 125^a.
- Micro molino IKA MF10 Basic.

Métodos

Tratamientos y diseño experimental

Se montó un ensayo con plantas de Vetiver en condiciones de invernadero, con fecha 27 de mayo del 2016 y termino 28 de noviembre del mismo año. Las condiciones de temperatura y humedad se registran en el Cuadro 3. La unidad experimental correspondió a una planta de Vetiver cultivada en suelo impactado con relave, considerando la aplicación de la enmienda órgano-mineral en dos dosis frente a suelo sin aplicación de enmienda. Se estableció un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA), con estructura factorial de

tratamiento 3x2 (factor enmienda 3 niveles y factor fecha 2 niveles) y con 4 repeticiones por tratamiento. Los suelos fueron dispuestos en macetas de 5 L. Se aplicaron 2 dosis de enmienda. Las dosis de la enmienda fueron: dosis 1: 400 L ha⁻¹ y la dosis 2: 800 L ha⁻¹. La aplicación de la enmienda fue diluida en el agua de riego de forma parcializada considerando un riego 1-2 veces por semana, en volúmenes de 250-300 mL de agua potable. Las características químicas del agua de riego se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2.- Características químicas agua de riego invernadero

Parámetro	Unidades	Agua de riego
pH	-	7,5
CE	(dS m ⁻¹)	1,39
Ca ⁺²	(mg L ⁻¹)	161,52
K ⁺	(mg L ⁻¹)	21,51
Mg ⁺²	(mg L ⁻¹)	1,64
Na ⁺	(mg L ⁻¹)	89,47
Cl ⁻	(mg L ⁻¹)	116,31
HCO ₃ ⁻	(mg L ⁻¹)	40,27
SO ₄ ⁻²	(mg L ⁻¹)	235,83
Dureza	(mg L ⁻¹) de CaCO ₃	41,01

Fuente: Laboratorio de Química de Suelos y Aguas. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile (2016).

Cuadro 3.- Tabla de temperaturas Junio-Diciembre 2016

Mes	Temperatura promedio (°C)	Temperatura máxima (°C)	Temperatura mínima (°C)	Temperatura máxima estimada en invernadero (°C)
Junio	8,2	25,1	0,4	35,1
Julio	8,5	22,7	-1	32,7
Agosto	10,2	25,5	0	35,5
Septiembre	13,4	33,6	-0,5	43,6
Octubre	15,7	34,1	2,2	44,1
Noviembre	20,2	38,5	5,4	48,5
Diciembre	21	39,4	8,2	49,5

Fuente: Agromet, INIA. 2016. Datos obtenidos de estación meteorológica La Platina. Se estimó la temperatura de invernadero, sumando 10 °C a la temperatura registrada por la estación La Platina.

Se realizaron 3 muestreos destructivos de las plantas, consistentes en una extracción de la planta desde la maceta, su posterior procesamiento y análisis químico, resultando en la pérdida del individuo, se efectuó este muestreo al inicio del ensayo, a los 60 y 120 días después de la aplicación de la enmienda. Los tratamientos se presentan en el Cuadro 4.

Cuadro 4.- Tratamientos del ensayo de Fitoestabilización con plantas de Vetiver

Tratamientos	Descripción
T1-60	Sin enmienda, a 60 días
T2 D1-60	Con enmienda dosis 1, a 60 días
T3 D2-60	Con enmienda dosis 2, a 60 días
T4-120	Sin enmienda, a 120 días
T5 D1-120	Con enmienda dosis 1, a 120 días
T6 D2-120	Con enmienda dosis 2, a 120 días

Determinación de propiedades químicas de los suelos

Las muestras de suelos impactados por el derrame de relaves y suelos sin impacto se secaron y tamizaron a < 2 mm, para caracterización inicial, mediante los siguientes análisis:

- pH en agua, suspensión 1:5 p/v (Sadzawka *et al.*, 2006).
- Conductividad eléctrica, pasta saturada (Sadzawka *et al.*, 2006).
- Materia orgánica por calcinación (Sadzawka *et al.*, 2006).
- Nitrógeno disponible, mediante extracción con cloruro de potasio y titulación (Sadzawka *et al.*, 2006).
- Fósforo disponible, mediante el método Olsen (Sadzawka *et al.*, 2006).
- Potasio disponible, mediante extracción con acetato de amonio y determinación en MP-AES. (Sadzawka *et al.*, 2006).
- S extraíble (disponible), mediante extracción con solución de dihidrógeno fosfato de calcio y determinación por turbidimétrica (Sadzawka *et al.*, 2006).
- Cu, Fe y Mo total, mediante metodología basada en METHOD 3050B- EPA, las muestras de suelos fueron digeridas con ácido nítrico (HNO₃), agua oxigenada (H₂O₂) y posteriormente con ácido clorhídrico (HCl). Una vez concluida la digestión, las concentraciones de los elementos: Cu y Mo fueron determinadas por Espectrofotometría de Emisión Atómica Inducida Mediante Plasma y Microondas (MP-AES) (EPA, 1996).
- Respecto a la enmienda órgano-mineral se midió el pH y conductividad eléctrica en suspensión 1:2,5 P/V.
- El contenido de materia orgánica de la enmienda órgano-mineral se evaluó mediante metodología de curva de sacarosa, consistente en una oxidación con H₂SO₄, KCr₇Na y Na₂Cr₂C₇ (Sadzawka *et al.*, 2006).

Cálculo de factor de enriquecimiento (FE):

Para evaluar el nivel de contaminación de los suelos impactados por el derrame de relaves, se procedió a calcular el Factor de Enriquecimiento para Cu, Mo y S. Este factor representa la relación entre la concentración de un elemento de una muestra y la concentración de referencia o *background*, ambas relacionadas a la concentración de Fe (Ec.1) (Varol y Bulent, 2012). La concentración de referencia se conoce al nivel de fondo o base que tiene el suelo y que no ha sido impactado por el evento. La concentración de Fe se utiliza porque este elemento presenta una concentración estable en los suelos y los óxidos de Fe adsorben metales. El FE permite determinar el nivel de contaminación debido a impactos antropogénicos de acuerdo al Cuadro 5.

El Factor de Enriquecimiento se calcula:

- Factor de Enriquecimiento =
$$\frac{[\text{Elemento (mg kg}^{-1}\text{)/Fe (mg kg}^{-1}\text{)]Muestra}}{[\text{Elemento (mg kg}^{-1}\text{)/Fe (mg kg}^{-1}\text{)]Background} \quad (1)$$

Cuadro 5.- Interpretación del Factor de Enriquecimiento (Varol y Bulent, 2012)

Rango	Interpretación	Nivel de contaminación
FE < 1	Sin enriquecimiento	No contaminado
1 < FE < 3	Enriquecimiento menor	No contaminado a moderadamente contaminado
3 < FE < 5	Enriquecimiento moderado	Moderadamente contaminado
5 < FE < 10	Enriquecimiento moderadamente severo	Moderadamente a fuertemente contaminado
10 < FE < 25	Enriquecimiento severo	Fuertemente contaminado
25 < FE < 50	Enriquecimiento muy severo	Fuertemente a muy fuertemente contaminado
FE > 50	Enriquecimiento extremadamente severo	Muy fuertemente contaminado

Evaluaciones de las plantas

Se evaluó la altura y número de hojas de las plantas semanalmente. Una vez aplicada la enmienda, a los 60 y 120 días se determinó:

- Peso fresco y peso seco de raíz y parte aérea: Las plantas se lavaron con HCl diluido y luego con agua destilada. El secado fue a $65 \pm 5^\circ\text{C}$ y se determinó el peso seco. Posteriormente se separó la parte aérea de la raíz, para análisis por separado. Las muestras fueron molidas en un micromolino (IKA) y se tamizaron a 0,5 mm para los posteriores análisis.
- Concentración de Cu y Mo: Se pesó 1,0 g de muestra, posteriormente se tamizó a 2 mm y se secó a $65^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ hasta masa constante. Las muestras secas se colocaron en vasos de teflón y se adicionó 10 mL de HNO_3 al 33%, para calentar en placa calefactora a $95^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$. Posteriormente se adicionó 5 ml de HNO_3 al 65% y se calentó en placa calefactora a $95^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ por dos horas. Luego se adicionó 2 ml H_2O destilada y 10 ml de H_2O_2 al 30% y se calentó a $95^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ por 2 horas (EPA, 1996). Posteriormente se adicionó 10 ml de HCl (37% - fumante) y se calentó en placa calefactora a $95^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$ por 15 minutos y finalmente se filtró. La determinación de metales fue en equipo MP-AES.
- Concentración de S: Las muestras fueron calcinadas a 500°C con nitrato de magnesio y la determinación fue mediante turbidimetría con sulfato de bario (Sadzawka *et al.*, (2007)).

Cálculos de índices de transporte a la parte aérea:

Con el fin de evaluar la capacidad de fitoestabilización en Vetiver se utilizaron los siguientes índices:

- Índice de Transporte a la parte aérea

Este índice permite estimar la capacidad de la planta para transportar desde la raíces, a la parte aérea los contaminantes (Ghosh y Singh, 2005), al obtener resultados de $Ti < 1$, se presenta una tendencia a mantener los elementos en la zona radicular.

- Cálculo del Índice de Transporte a la parte aérea (Ti)

$$Ti = \frac{\text{Concentración de elemento en hojas (mg kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentración de elemento en raíz (mg kg}^{-1}\text{)}}$$

- Porcentaje de Fitoextracción (PF)

El PF permite estimar la capacidad de la planta de extraer un elemento específico, respecto a la concentración del suelo del mismo elemento (Ghosh y Singh, 2005).

- Cálculo del Porcentaje de Fitoextracción (PF)

$$PF (\%) = \frac{\text{Contenido de } \textit{elemento} \text{ en parte aérea (mg)}}{\text{Contenido inicial de } \textit{elemento} \text{ en el suelo de la maceta (mg)}} \times 100$$

Análisis Estadístico:

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza ANDEVA (Análisis de varianza), por medio del programa INFOSTAT. En casos que se detectó interacción o efecto independiente de los factores analizados se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey $p \leq 0,05$. Las variables altura inicial y/o número de hojas por planta iniciales serán considerados como posibles covariables en el análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.- Propiedades químicas de los suelos

En el Cuadro 6 se presentan los resultados de la caracterización inicial de los suelos donde se evaluó las concentraciones de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K). Los valores de N para suelo impactado y sin impactar presenta valores medios de N (21-36 mg kg⁻¹) (Bernier y Bortolameoli, 2000). Las concentraciones de P observadas en los suelos en estudio muestran valores altos (20,1-30 mg kg⁻¹). En el caso del K se observan concentraciones muy altas (>248,9 mg kg⁻¹) en ambos suelos (Riquelme *et al.*, 2004). Respecto al pH el suelo sin impacto puede ser catalogado en un suelo ligeramente alcalino (pH>7,3) y el suelo impactado como neutro (pH 6,6-7,3) (Soil survey, 2008). Cabe destacar que a diferencia del suelo sin impactar, el suelo impactado se localiza en un paso de agua (Figura 1), esto conlleva mayores procesos de acidificación en suelos. Respecto a la conductividad eléctrica (CE) se observa un suelo no salino (0-2 dS m⁻¹) para ambos suelos. La materia orgánica (M.O.) presente en el suelo sin impactado es baja (1-3%) mientras que el suelo impactado presenta un alto porcentaje de materia orgánica (>6%) (Riquelme *et al.*, 2004).

En el Cuadro 7 se presenta la caracterización de la enmienda órgano-mineral, se observan niveles altos de conductividad y pH. EL porcentaje de MO es bajo (<1%) (Riquelme *et al.*, 2004), se clasifica como un enmienda órgano-mineral muy salina (>16 dS m⁻¹) y alcalina (pH >9) (Soil survey, 2008).

Cuadro 6.- Principales propiedades químicas de los suelos de la localidad de Huechún

Suelos	pH	CE	MO	N	P	K
		dS/m	%		Disponibles mg kg ⁻¹	
Suelo sin impacto	7,8 ± 0,01	1,10 ± 0,38	2,13 ± 0,05	20,2 ± 3,2	20,6 ± 2,7	340 ± 33,3
Suelo impactado	6,7 ± 0,03	1,44 ± 0,11	6,06 ± 0,12	24 ± 4	27,8 ± 1,5	351 ± 37,8

Los valores son promedio ± desviación estándar (n = 4).

Cuadro 7.- Caracterización inicial enmienda órgano-mineral

Enmienda órgano-mineral	pH	C.E. (dS m ⁻¹)	M.O. (%)
Quick-Sol	11,9 ± 0,03	20,1 ± 3,21	0,03 ± 0,01

Resultados corresponden a promedio de datos ± desviación estándar (n = 4).

2.- Concentraciones totales de cobre, molibdeno y azufre iniciales en los suelos

Respecto al Cu, el suelo sin impacto presentó concentraciones de 106 mg kg^{-1} y el suelo impactado de 126 mg kg^{-1} (Cuadro 8), estos valores se encuentran por sobre el promedio mundial en suelos reportado en Kabata-Pendias y Mukherjee, 2011 ($38,9 \text{ mg kg}^{-1}$). Este resultado es esperable debido a la cercanía de este suelo a actividades mineras, lo que tiende a subir las concentraciones del metal (Ansari *et al.*, 2015).

Respecto al Mo (Cuadro 8), para el suelo sin impacto la concentración es elevada en comparación al promedio de Mo en suelos según Havlin *et al.* (2014), que va de los $0,2$ a los 5 mg kg^{-1} , sin embargo concentraciones más altas de Mo se reportan en suelos ubicados en zonas industriales del Reino Unido, cercanas a 24 mg kg^{-1} . En Chile suelos cerca de plantas de procesamiento de metales, arrojaron concentraciones próximas a 36 mg kg^{-1} (Alloway, 2010). Para el suelo impactado las concentraciones de Mo se mantienen, lo cual es esperable debido a la baja concentración de este metal en la composición del relave (Anexo 1).

Respecto al S disponible se observa una clara diferencia en la concentración de S disponible entre el suelo impactado y no impactado (Cuadro 8), esto es atribuible a la alta concentración de S disponible presente en el relave de Tranque Ovejería $2,209 \pm 102 \text{ mg S kg}^{-1}$ (Anexo 1). La literatura reporta distintas concentraciones de S en suelos que dependen del material parental. Para suelos derivados de granito y arenisca valores de 20 mg kg^{-1} (S total), para suelos derivados de sedimentos, valores cercanos a 200 mg kg^{-1} (S total) y finalmente para suelos turbosos y ácidos valores mayores a 1000 mg kg^{-1} (S total) (Abrol y Ahmad, 2003). En consecuencia, respecto a este ensayo, si bien existe un aumento significativo en la concentración de S en el suelo impactado, es una concentración posible de encontrar de forma natural en suelos.

Desde el punto de vista de fertilidad de suelos se considera los siguientes valores para azufre disponible: $<4 \text{ mg kg}^{-1}$ (muy bajo), $4-8 \text{ mg kg}^{-1}$ (bajo), $8-12 \text{ mg kg}^{-1}$ (medio) y $>12 \text{ mg kg}^{-1}$ (alto) (Rodríguez, 1993).

Cuadro 8.- Concentraciones totales de Cu, Mo y concentración disponible de S en suelos impactados y sin impactar de la localidad de Huechún

Suelos	Cu total mg kg^{-1}	Mo total mg kg^{-1}	S disponible mg kg^{-1}
Suelo no impactado	$106 \pm 2,90$	$18,0 \pm 0,91$	$19,0 \pm 3,17$
Suelo impactado	$126 \pm 2,87$	$18,0 \pm 0,25$	$95,0 \pm 22,7$

Resultados corresponden a promedio de datos, \pm precede a la desviación estándar ($n = 4$).

2.1.-Factor de enriquecimiento de metales y azufre en suelos impactados por relaves mineros

Cuadro 9.- Factor de enriquecimiento respecto al Cu; Mo total y S disponible en suelo impactado

Suelo	Factor de enriquecimiento			Concentración mg kg ⁻¹ suelos	
	Cu	Mo	S	Fe (Con impacto)	Fe (Sin impacto)
Impactado	1	0,8	4	59542	47706

Valores promedio de elementos y Fe ingresados en la formula

Los valores del índice Factor de Enriquecimiento (FE) se presentan en el Cuadro 9. Se observa un enriquecimiento menor para Cu y no se registra enriquecimiento para Mo. Para el S extraíble, se muestra un FE catalogado como moderadamente contaminado. Estos resultados son esperables observando la caracterización del relave Tranque Ovejería presentada en el Anexo 1.

3.- Cobre, molibdeno y azufre en los suelos con los tratamientos

Las concentraciones totales de Cu, Mo y S disponible en suelos a los 60 y 120 días de ensayo se presentan en el Cuadro 10. Se observa que para los metales, no hay diferencias significativas entre los tratamientos, lo que indica que la enmienda no tiene efecto en las concentraciones de metales en el suelo, ni tampoco en la planta. Estas concentraciones sin variaciones, pueden explicarse por la toma de metales desde las raíces que no es creciente en el tiempo. Esta toma de metales es descrita en literatura, las plantas en presencia de metales adoptan estrategias, dependiendo de la especie, sus raíces pueden actuar como barrera en una estrategia de exclusión para no tomar más metal del necesario (Trakal *et al.*, 2015).

Las concentraciones de azufre disponible en suelo, muestran un alza significativa a los 120 días (Cuadro 8). Este aumento en el tiempo puede ser atribuido a la oxidación de la pirita, liberando SO₄⁻² constantemente, sumado a esto el agua de riego adicionó S regularmente a la unidad experimental, al presentar 235,8 mg L⁻¹ de SO₄⁻² (Cuadro 2). El aumento de S disponible asociado al efecto de la enmienda órgano-mineral, podría deberse a su alto valor de pH 11,9 (Cuadro 7), que alteraría la capacidad de intercambio aniónico (CIA), con ello la disponibilidad del anión SO₄⁻² sería mayor y más susceptible a lixiviación (Brady y Weil, 2008).

Cuadro 10.- Concentraciones de Cu, Mo, S en suelos según tratamiento y tiempo

Tratamiento	Tiempo (días)	Concentración de elemento total en suelos (mg kg ⁻¹)		
		Cu total	Mo total	S disponible
T1-60	60	53,2 ± 3,2 a	6,3 ± 0,6 a	275 ± 23,8 a
T2 D1-60	60	50,1 ± 3,6 a	6,5 ± 0,7 a	270 ± 9,1 a
T3 D2-60	60	46,1 ± 3,9 a	5,7 ± 0,2 a	275 ± 22,9 a
T4 120	120	49,7 ± 2,8 a	6,5 ± 0,4 a	1195 ± 292,4 b
T5 D1-120	120	46,1 ± 2,5 a	6,2 ± 0,2 a	1559 ± 93,4 c
T6 D2-120	120	48,5 ± 4,8 a	6,3 ± 0,4 a	1473 ± 20,2 bc
Valor P		0,1725	0,2321	0,0236

Resultados corresponden a promedio de datos, ± precede a la desviación estándar (n = 4), Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (p<0,05, Tukey). Valor P corresponde a la evaluación de la interacción tiempo*enmienda (días*dosis).

4.- Concentraciones de cobre, molibdeno y azufre en plantas

4.1.-Cobre, molibdeno y azufre en parte aérea

Las concentraciones obtenidas de Cu y Mo en plantas se presentan en el Cuadro 11. Se observan una disminución significativa de los niveles de Cu y Mo con el transcurso del tiempo, debido probablemente al efecto de dilución que produce el crecimiento de las plantas (Deram *et al.*, 2006). Por lo tanto, no necesariamente a una mayor generación de biomasa, sigue una mayor bioacumulación de elementos contaminantes en estas plantas. Coinciden también estas diferencias con un cambio de estación y un alza de temperaturas (Cuadro 3).

En las concentraciones de S en plantas no se observan diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, existe una tendencia a disminuir el nivel de S con el tiempo. Esto podría ser atribuido a que la planta al estar en un ambiente rico en S, transportaría menos S desde las raíces a las hojas (Anderson y Fitzgerald, 2003).

Cuadro 11.- Concentraciones de Cu, Mo y S en parte aérea de las plantas según tratamiento y tiempo

Tratamiento	Tiempo (días)	Concentración de elemento (mg kg ⁻¹)		
		Cu	Mo	S
T1-60	60	19,1 ± 1,7 a	1,4 ± 0,2 a	2312 ± 544 a
T2 D1-60	60	21,8 ± 2,7 a	1,5 ± 0,2 a	1769 ± 565 a
T3 D2-60	60	18,2 ± 2,1 a	1,3 ± 0,2 a	2055 ± 387 a
T4 120	120	7,9 ± 0,3 b	0,6 ± 0,2 b	1877 ± 453 a
T5 D1-120	120	7,2 ± 1,0 b	0,3 ± 0,1 b	1767 ± 703 a
T6 D2-120	120	8,1 ± 1,4 b	0,4 ± 0,05 b	1482 ± 129 a
Valor P		0,0537	0,0832	0,5020

Resultados corresponden a promedio de datos, ± precede a la desviación estándar (n = 4), Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (p<0,05, Tukey). Valor P corresponde a la evaluación de la interacción tiempo*enmienda (días*dosis).

4.2.- Cobre, molibdeno y azufre en raíces

El Cu y Mo, al igual que en la parte aérea de las plantas, disminuyeron significativamente los niveles con el transcurso del tiempo (Cuadro 12), debido al efecto dilución.

Respecto a las concentraciones de S en raíces, se observan diferencias significativas tanto en el factor tiempo como el factor enmienda. El efecto del tiempo, podría explicarse por el ambiente rico en S, estudios sobre S en plantas, determinaron que el transporte de S desde las raíces se ve influenciada por el nivel de nutrición de S (Anderson y Fitzgerald, 2003), revelando que en un ambiente rico en S, la planta tiende a concentrar una cantidad mayor de S en raíces y consecuentemente un movimiento menor de este elemento hacia los tejidos aéreos. Para el efecto enmienda en raíces, donde T3, T5 y T6 muestran diferencias significativas con T1, puede atribuirse al alto pH presente en la enmienda órgano-mineral 11,9 (Cuadro 7), este podría alterar la CIA como se propuso anteriormente (Brady y Weil, 2008). Otro factor que podría sumarse en la explicación de los resultados presentados, sería una necesidad cubierta de S por parte de la planta, por lo que no tomaría más del macro elemento desde el suelo.

Cuadro 12.- Concentraciones de Cu, Mo y S en raíces de las plantas según tratamiento y tiempo

Tratamiento	Tiempo (días)	Concentración de elemento (mg kg ⁻¹)		
		Cu	Mo	S
T1-60	60	75,4 ± 20 a	2,6 ± 0,5 a	626,2 ± 275,0 a
T2 D1-60	60	52,2 ± 3,1 b	2,2 ± 0,8 a	1309,3 ± 697,4 ab
T3 D2-60	60	58,1 ± 2,3 ab	2,5 ± 0,4 a	2849,3 ± 182,1 c
T4 120	120	20,5 ± 4,6 c	1,0 ± 0,3 b	2124,0 ± 433,9 bc
T5 D1-120	120	22,2 ± 4 c	0,9 ± 0,3 b	1989,0 ± 438,8 bc
T6 D2-120	120	17,8 ± 1,2 c	0,9 ± 0,3 b	1831,2 ± 228,3 b
Valor P		0,0687	0,7672	

Resultados corresponden a promedio de datos, ± precede a la desviación estándar (n = 4), Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (p<0,05, Tukey). Valor P corresponde a la evaluación de la interacción tiempo*enmienda (días*dosis).

5.- Índices de Fitorremediación

5.1.- Índice de Transporte a la parte aérea

En el Cuadro 13 se presentan los resultados para el Ti de metales a la parte aérea. Se observa que a pesar del aumento en biomasa general, no se observa una transporte de metales, lo que es consecuente con el efecto dilución descrito por Deram *et al.*, 2006.

Cuadro 13.- Transporte de Cu, Mo y S a los 60 y 120 días de ensayo

Tratamiento	Tiempo (días)	Índice de Transporte de (mg kg ⁻¹)		
		Cu	Mo	S
T1 60	60	0,27 ± 0,08 a	0,62 ± 0,18 a	3,52 ± 0,64 a
T2 D1-60	60	0,42 ± 0,03 ab	0,56 ± 0,08 a	2,04 ± 0,54 b
T3 D2-60	60	0,32 ± 0,05 ab	0,48 ± 0,06 a	0,72 ± 0,13 c
T4 120	120	0,40 ± 0,09 ab	0,67 ± 0,14 a	0,77 ± 0,04 c
T5 D1-120	120	0,33 ± 0,06 ab	0,23 ± 0,04 b	0,70 ± 0,17 c
T6 D2-120	120	0,45 ± 0,07 b	0,59 ± 0,07 a	0,82 ± 0,15 c
Valor P		0,0060	0,0006	0,0001

Resultados corresponden a promedio de datos, ± precede a la desviación estándar (n = 4), Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (p<0,05, Tukey). Valor P corresponde a la evaluación de la interacción tiempo*enmienda (días*dosis).

Se observan diferencias significativas en el T5 para Mo a los 120 días, que es consecuente con una menor concentración de Mo en parte aérea de la planta (Cuadro 11). Este resultado es deseable para una estrategia de fitoestabilización de Mo, es decir, que se disminuya el

paso del metal a la parte aérea. Sin embargo, al aumentar la dosis de enmienda (T6) el efecto de un menor Ti, no se observa. Es probable que una mayor dosis de enmienda, que presenta un pH fuertemente alcalino, aumente la disponibilidad de Mo, debido a que este metal se comporta como anión en el suelo (Brady y Weil, 2008).

Para el Cu también se observa un valor de Ti menor para T5 a los 120 días, pero sin diferencias significativas. La materia orgánica tiene una gran influencia en la movilidad y disponibilidad de los metales, al tener un efecto quelante sobre los metales bajando su disponibilidad (Petruzzelli *et al.*, 2015). La baja cantidad de elementos orgánicos presente en la composición de la enmienda (2%), explicaría la ausencia de cambios significativos en las concentraciones de Cu atribuibles a un efecto enmienda.

El Ti de S para los diferentes tratamientos muestran diferencias significativas. A los 60 días el Ti disminuye significativamente para T2 respecto a T1. Cabe destacar que los tratamientos con diferencias y mayor Ti se ubican en los 60 días de ensayo, esto concuerda con los estudios presentados por Anderson y Fitzgerald (2003), en los cuales se demuestra que un ambiente rico en S, influencia fuertemente la movilidad de S desde las raíces a la parte aérea. En el Cuadro 13 se observa para T1 y T2 índices de Ti mayores que el resto de los tratamientos, los que concuerdan con menores concentraciones de S en suelos y raíces para la misma fecha (Cuadro 10 y 12), confirmando lo postulado por Anderson y Fitzgerald.

5.2.- Porcentaje de Fitoextracción

Cuadro 14.- Porcentaje de Fitoextracción de Cu, Mo y S a los 60 120 días de ensayo

Tratamiento	Tiempo (días)	Índice de PF (%)		
		Cu	Mo	S
T1 60	60	0,03 ± 0,00 a	0,02 ± 0,00 a	4,56 ± 1,50 ab
T2 D1-60	60	0,03 ± 0,01 a	0,02 ± 0,00 a	3,68 ± 0,88 a
T3 D2-60	60	0,03 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a	3,72 ± 0,55 a
T4 120	120	0,02 ± 0,01 a	0,01 ± 0,01 a	4,43 ± 0,67 ab
T5 D1-120	120	0,02 ± 0,01 a	0,01 ± 0,01 a	6,95 ± 2,58 b
T6 D2-120	120	0,02 ± 0,00 a	0,01 ± 0,00 a	5,63 ± 0,58 ab
Valor P		0,1770	0,2497	0,0624

Resultados corresponden a promedio de datos, ± precede a la desviación estándar (n = 4), Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (p<0,05, Tukey). Valor P corresponde a la evaluación de la interacción tiempo*enmienda (días*dosis).

En el Cuadro 14 se presentan los resultados del PF. Para Cu y Mo no se encuentra diferencias significativas en ninguno de los tratamientos, evidenciando que la demanda de estos elementos está cubierta, de esta manera la planta no tomaría más de los metales desde el suelo.

En el PF para S, se observan diferencias significativas de T2 y T3 con T5. Esto indica que la planta con el tiempo y una menor dosis de enmienda aumentó la fitoextracción de S. Los niveles de PF registrados denotan una acumulación activa de S en Vetiver, lo cual es esperable con una constante generación de biomasa, al ser éste un macro elemento (Havlin *et al.*, 2014).

6.- Biomasa

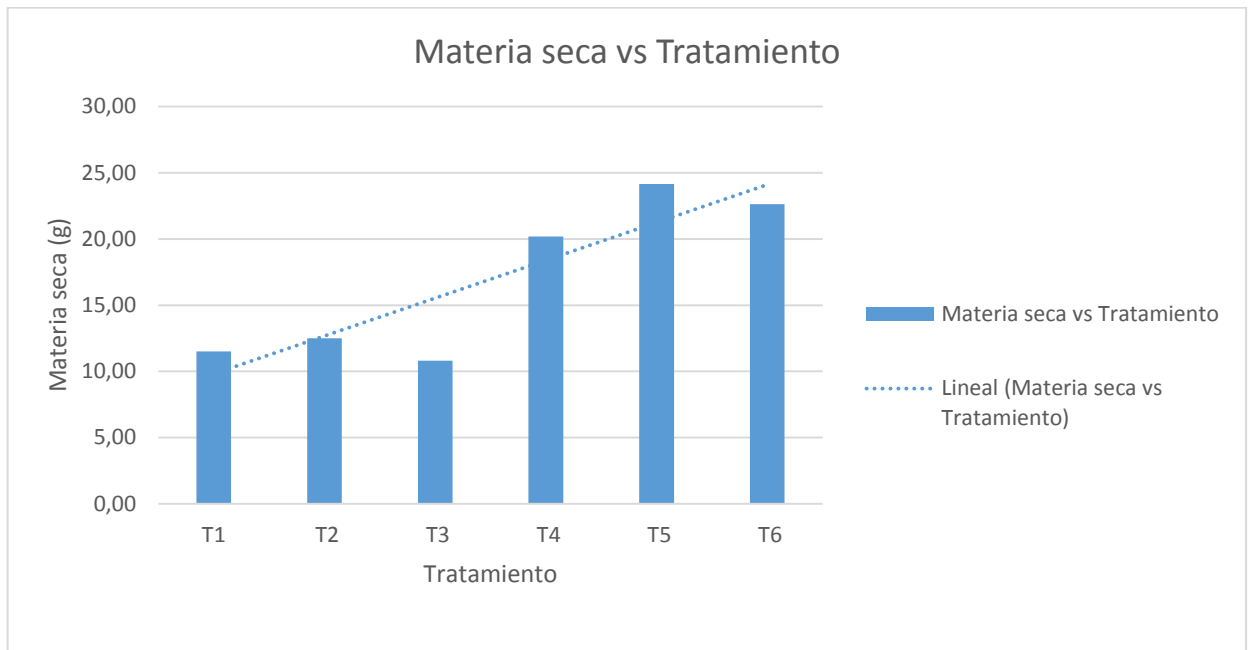
Los resultados obtenidos de materia seca se presentan en el Cuadro 15. Sólo se aprecia diferencias significativas entre el T1 y el T6 debido al factor tiempo. Sin embargo, no se observan diferencias significativas en la generación de biomasa a través del tiempo en Vetiver con la aplicación de la enmienda órgano-mineral.

En ensayos similares con plantas de Vetiver (Acuña, 2016) se ha registrado una mayor generación de biomasa, cercana a 46 g a los 90 días, el doble de lo obtenido en el presente ensayo a los 120 días (Figura 2). Esto puede ser atribuible a las condiciones generadas por las altas temperaturas del ensayo (Cuadro 3). Dichas temperaturas en sus puntos más altos fueron cercanas a los límites soportados por Vetiver según literatura, equivalentes a 55 °C (Truong *et al.*, 2009). Además, la planta de Vetiver tiene el potencial de generar en su primer año un sistema radical de hasta 3 metros de profundidad (Truong *et al.*, 2009). En el presente ensayo las plantas fueron confinadas a macetas de 5 litros en suelos que visualmente mostraron compactación, dicho confinamiento en las macetas probablemente afectó negativamente la producción de biomasa.

Cuadro 15.- Materia seca, altura de plantas y número de hojas 60 y 120 días post enmienda en suelo

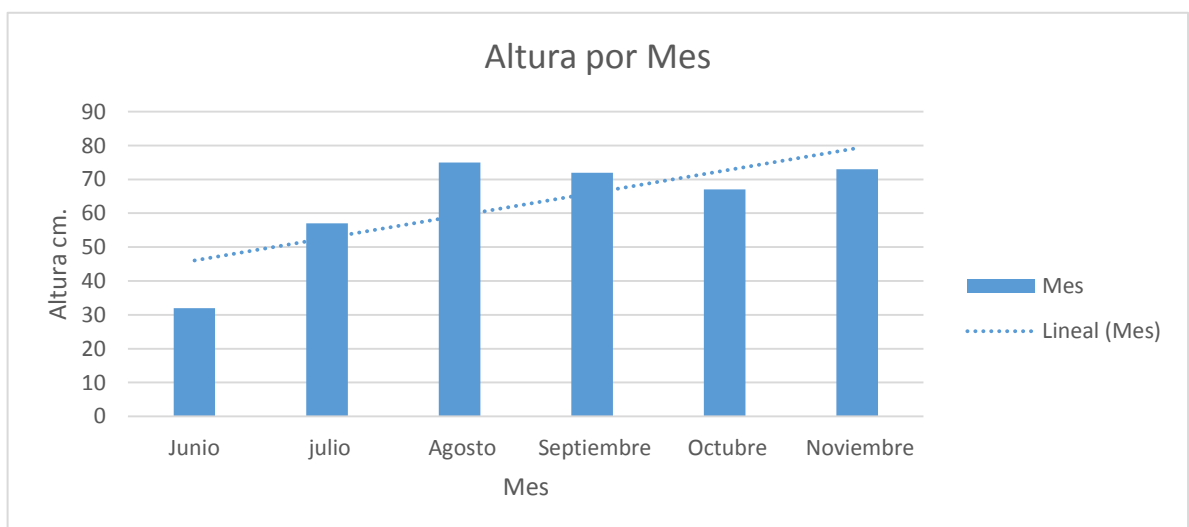
Tratamiento	Tiempo (días)	M.S. (g)	Altura (cm)	Numero Hojas
T1 60	60	11,5 ± 1,85 a	62 ± 10,8 a	6,67 ± 2,38 a
T2 D1-60	60	12,5 ± 1,70 ab	70,2 ± 9,75 a	6,75 ± 3,13 a
T3 D2-60	60	10,8 ± 1,65 ab	77,3 ± 0,96 a	6,75 ± 0,96 a
T4 120	120	20,2 ± 9,51 ab	63,8 ± 9,81 a	28,3 ± 5,5 b
T5 D1-120	120	24,2 ± 8,64 b	72 ± 4,24 a	25,0 ± 6,22 b
T6 D2-120	120	22,6 ± 4,52 b	77,8 ± 13 a	23,8 ± 5,44 b
Valor P		0,8237	0,5045	0,5631

Resultados corresponden a promedio de datos, ± precede a la desviación estándar (n = 4), Letras distintas en una columna indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos (p<0,05, Tukey). Valor P corresponde a la evaluación de la interacción tiempo*enmienda (días*dosis).



Figuras 2: Materia seca (g) de Vetiver para los distintos por tratamientos después de 120 días de ensayo (n = 4).

Para la altura de plantas los resultados no muestran diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 15), se observa un tendencia a aumentar hasta una altura cercana a los 70 cm (Figura 3). Al comparar los resultados con trabajos similares, se ve una tendencia a estabilización de los valores de altura en alrededor de los 70 cm (Anexo 3).



Figuras 3: Altura (cm) de la planta promedio total indistinta de tratamiento (n = 36), desde establecimiento hasta 120 días post enmienda.

Los números de hojas presentados en el Cuadro15, muestran diferencias significativas entre T1, T2, y T3 comparados contra T4, T5 y T6, dichos resultados son esperables debido a las altas temperaturas registradas en los últimos meses del ensayo y el cambio de invierno a primavera entre los 60 y 120 días del ensayo.

CONCLUSIONES

- Las concentraciones de cobre y molibdeno en el suelo impactado por relaves mineros, presentan un enriquecimiento menor para cobre y no se evidencia enriquecimiento para molibdeno. El azufre disponible en el suelo impactado por relaves mineros aumentó significativamente en el tiempo con y sin aplicación de enmienda órgano-mineral, lo que se ve reflejado por el factor de enriquecimiento. Esto es atribuible a la alta concentración soluble y disponible de azufre en el relave minero de Tranque de relaves Ovejería.
- *Chrysopogon zizanioides* establecida en suelos impactados por relaves mineros alcanzó concentraciones que se ajustan a los rangos encontrados en literatura para cobre y molibdeno en sus tejidos vegetales.
- *Chrysopogon zizanioides* con la aplicación de la enmienda órgano-mineral en menor dosis (400 L ha^{-1}), a los 120 días presentó una tendencia a aumentar su capacidad de fitoestabilización y consecuentemente se registró un menor Índice de Transporte a la parte aérea en cobre y molibdeno, pero al no observarse diferencias significativas su adición no fue determinante en este estudio. A su vez, no se obtuvieron diferencias significativas en el Porcentaje de Fitoextracción. .
- *Chrysopogon zizanioides* presenta tolerancia a ambientes moderadamente contaminados por azufre. La menor dosis de la enmienda órgano-mineral (400 L ha^{-1}) generó una tendencia a disminuir el Índice de Transporte de azufre a la parte aérea.
- La enmienda órgano-mineral a los 120 días, no mostró efectos positivos en la cantidad de biomasa.
- Es posible generar una cobertura verde con *Chrysopogon zizanioides* en ambientes moderadamente contaminados por azufre y por lo tanto se recomienda su establecimiento, para aminorar la lixiviación de este elemento.

BIBLIOGRAFÍA

Abrol, Y. and Ahmad, A. 2003. Sulphur in Plants. First edition. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic Publishers. 398 p.

Acuña, E. 2016. Evaluación de *Atriplex halimus* y *Chrysopogon zizanioides* en la fitorremediación inducida de un suelo contaminado con plomo. Tesis para optar a grado de magister en manejo de suelos y aguas. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. 97 p.

Agromet. 2017. Red meteorológica de INIA. [En línea]. Santiago, Chile. INIA. Recuperado en: < <http://agromet.inia.cl/estaciones.php>>. Consultado 16 de mayo del 2017.

Alloway, B. 2010. Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. 3th edition. Netherlands. Springer. 612 p.

Anderson, W. and Fitzgerald, M. 2003. Sulphur Distribution and Redistribution in Vegetative and Generative Plants. Sulphur in Plants. First edition. Dordrecht, The Netherlands. Kluwer Academic Publishers. 6: 113-134 p.

Ansari, A. Gill, S. Gill, R. Lanza, G. and Newman, L. 2015. Phyto-remediation Management of Environmental Contaminants. Switzerland. Springer International Publishing. Vol 1. 348 p.

Bernier, R. y Bortolameo G. 2000. Técnicas de Diagnóstico de Fertilidad del Suelo, Fertilización de Praderas, Cultivos y Mejoramiento de Praderas. Serie Actas INIA. N° 4. 71 p.

Brady, N. and Weil, R. 2008. The Nature and Properties of Soils. 14 th edition. Upper Saddle River, New Jersey. United States of America. Pearson, Inc. 975 p.

CIREN (Centro de información de Recursos Naturales). 1995. Requerimientos de clima y suelo: Chacras y hortalizas, CIREN. Santiago, Chile, 107: 196 p.

Chaney, R.; Malik, M.; Li, Y.; Brown, S.; Brewer, E.; Angle, S. and Barker, A. 1997. Phytoremediation of soils metals. Current Opinion on Biotechnology. 8: 279-284 p.

Deram A, Denayer F-O, Dubourgier H-C, Petit D and Van Haluwyn C. 2006. Seasonal variations of cadmium and zinc in *Arrhenatherum eliatum*, a perennial grass species from highly contaminated soils. Environmental Pollution. 140: 62–70 p.

Decreto 41. APRUEBA REGLAMENTO DE LA LEY DE CIERRE DE FAENAS E INSTALACIONES MINERAS. Ministerio de Minería. 2012. 27 páginas. [Publicado en diario oficial: 04-09-2012].

EPA, U. (1996). Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils. Revision 2. EPA. United States of America. CD-ROM

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

Ghosh, M. and S. Singh. 2005. A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species. *Environmental Pollution*. 133: 365-371 p.

Havlin, J., S. Tisdale, W. Nelson and J. Beaton. 2014. *Soil Fertility and Fertilizers: An Introduction to Nutrient Management*. 8 th edition. Upper Saddle River. New Jersey. United States of America. Pearson, Inc. 516 p.

Hernández-Crespo, C. y Martín, M. 2015. Determination of background levels and pollution assessment for seven metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Fe, Mn) in sediments of a Mediterranean coastal lagoon. *Catena*. 133: 206-214 p.

Kabata-Pendias, A. and Mukherjee, A. 2011. *Trace Elements in Soils and Plants*. 4th edition. New York. United States of America. Springer. 520 p.

Lottermoser, B. 2010. *Mine Wastes*. 3th Edition. New York. United States of America. Springer. 333 p.

Mingorance, MD., Valdes B. and Rossini Oliva S. 2007. Strategies of heavy metal uptake by plants growing under industrial emissions. *Journal of Environmental Management* 33:514–520.

Rodríguez, J. 1993. *Manual de Fertilización*. Primera Edición. Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago. Chile. Ed. Jose Rodriguez y Julio Donoso. 362 p.

Oorts, K. 2010. Copper. En: Alloway, B. 2010. *Heavy Metals in Soils. Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability*. 3th edition. Netherlands. Springer. 3: 367-394 p.

Orchard, C.; P. León-Lobos and R. Ginocchio. 2009. Phytostabilization of massive mine wastes with native phytogenetic resources: potential for sustainable use and conservation of the native flora in north-central Chile. *Ciencia e Investigación Agraria*. 36(3):329-352 p.

Riquelme, J., C. Pérez, C. y Yoshikawa, S. 2004. Manejo y prácticas conservacionistas del suelo para un desarrollo sustentable del secano. *Boletín INIA N°124*. 200 p.

Sadzawka, A.; Carrasco, M.A.; Grez, R.; Mora, M.L.; Flores, H. y A. Neaman. 2006. Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile. Revisión 2006. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Series Actas INIA N° 34, Santiago, Chile. 164 p.

Sadzawka, A.; Carrasco, M.A.; Demanet, R.; Flores, H.; Grez, R.; Mora, M. y Neaman, A. 2007. Métodos de análisis de tejidos vegetales. Segunda Edición. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Serie actas INIA N°40. Santiago, Chile. 140 p.

Seremi. 2014. Sistema vetiver logró recuperar aguas contaminadas para utilizarlas en riego. [En línea]. Santiago, Chile. Recuperado en: <<http://arica.minagri.gob.cl/2014/07/14/sistema-vetiver-logro-recuperar-aguas-contaminadas-para-utilizarlas-en-riego-3/>>. Consultado el: 29 de Diciembre de 2016.

Servicio Nacional de Geología y Minería (SERNAGEOMIN), 2014. Anuario de la Minería de Chile. SERNAGEOMIN. 245 p.

Soil Survey Division Staff. 2008. Soil survey manual. Soil Conservation Service. U.S. Department of Agriculture Handbook 18. [En línea]. Santiago, Chile. Recuperado en: <https://www.nrcs.usda.gov/wps/portal/nrcs/detail/soils/ref/?cid=nrcs142p2_054253>. Consultado el: 29 de Diciembre de 2016.

Skierszkan E.K.; Mayer K.U.; Weis D. and Beckie R.D., 2016. Molybdenum and zinc stable isotope variation in mining waste rock drainage and waste rock at the Antamina mine, Peru. *Science of the Total Environment*. 550: 103-113 p.

Tapia, Y. 2015. Simposio Nacional de la ciencia del suelo. (Boletín N°27. Santiago, Chile. 7, 8 y 9 de octubre, 2015). Fitoestabilización de cobre en relaves mineros mediante *Carpobrotus aequilaterus* y adición de sustancias húmicas. Fernandez, Y.T., Santiago, Chile: Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. 157 p.

Trakal, L. Martinez-Fernandez, D, Vitkola, M. and Komarek, M. 2015. Phytoextraction of Metals: Modeling Root Metal Uptake and Associated Processes. En: *Phyto-remediation Managment of Enviromental Contaminats*. 2015. Switzerland. Springer International Publishing Vol 2. 6: 69-86 p.

Troung, P.; Tran Tan, V. and Pinnars, E. *Vetiver System Technical Manual*. 2009. Edición en Español. The Vetiver Network International. 92 p.

Varol, M. and Bülent, S. 2012. Assessment of nutrient and heavy metal contamination in surface water and sediments of the upper Tigris River, Turkey. *Catena*. 92: 1-10 p.

Wong, M.H. 2003. Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils. *Chemosphere*. 50: 775-780 p.

ANEXOS

Anexo 1.- Caracterización Relave Ovejerías:

Cuadro 14 Propiedades fisico-químicas de relave minero Ovejería. Valores promedio, desviación estándar \pm (n = 3).

	Relave minero Ovejería
pH	6.3 \pm 0.1
Conductividad eléctrica (dS m ⁻¹)	3.84 \pm 0.10
Materia Orgánica (%)	0.31 \pm 0.05
CEC (cmol _c kg ⁻¹)	6.35 \pm 1.51
N disponible (mg kg ⁻¹)	6.55 \pm 1.80
P disponible (mg kg ⁻¹)	0.40 \pm 0.01
K disponible (mg kg ⁻¹)	9.32 \pm 0.41
SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	1,243 \pm 27.8
S Extraíble (mg kg ⁻¹)	2,209 \pm 102
As Total (mg kg ⁻¹)	19.7 \pm 0.01
Cd Total (mg kg ⁻¹)	2.17 \pm 0.56
Cr Total (mg kg ⁻¹)	85.6 \pm 16.7
Cu Total (mg kg ⁻¹)	1,999 \pm 223
Fe Total (mg kg ⁻¹)	46,300 \pm 2,500
Mn Total (mg kg ⁻¹)	647 \pm 76
Mo Total (mg kg ⁻¹)	164 \pm 22
Ni Total (mg kg ⁻¹)	24.5 \pm 9.2
Pb Total (mg kg ⁻¹)	19.3 \pm 3.0
Zn Total (mg kg ⁻¹)	109 \pm 7.8
Densidad aparente (kg L ⁻¹)	1.57
Arena (%)	85
Limo (%)	13
Arcilla (%)	2.0

Fuente: Tapia, 2015.

Anexo 2.- Curvas de crecimiento en altura ajustadas de Vetiver (Acuña, 2016)

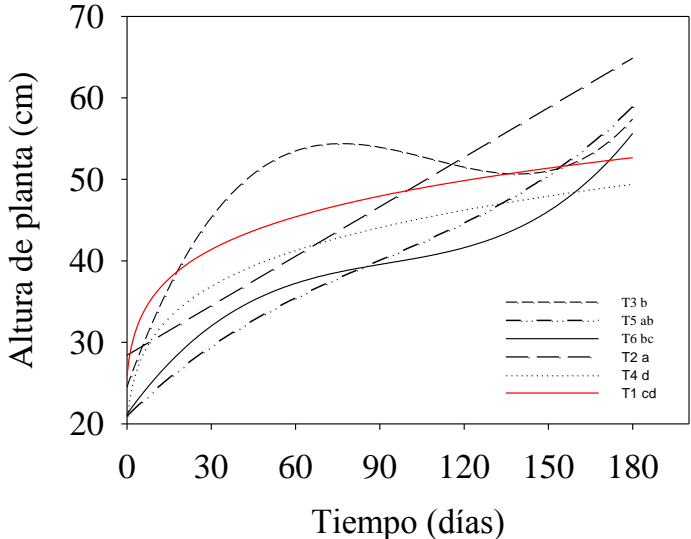


Figura 4. Curvas de crecimiento en altura ajustadas (n = 3) de *Chrysopogon zizanioides* durante un periodo de 180 días, en función de los tratamientos. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$, PCM de Fisher).