



Influencia de la fitoestabilización asistida sobre la fertilidad y movilidad de Pb-Zn en un depósito minero del sureste español

Autor: Silvia Martínez-Martínez

Institución: Universidad Politécnica de Cartagena

Otros autores: Francisco José Murcia Navarro (Comunidad Autónoma de la Región de Murcia); Raúl Zornoza (Universidad Politécnica de Cartagena); Ángel Faz (Universidad Politécnica de Cartagena); José A. Acosta (Universidad Politécnica de Cartagena); Rafael Sánchez-Medrano (Comunidad Autónoma de la Región de Murcia); María Dolores Gómez (Universidad Politécnica de Cartagena); Francisco José Murcia (Comunidad Autónoma de la Región de Murcia)

Influencia de la fitoestabilización asistida sobre la fertilidad y movilidad de Pb-Zn en un depósito minero del sureste español

Silvia Martínez-Martínez (Universidad Politécnica de Cartagena), Francisco José Murcia Navarro (Comunidad Autónoma de la Región de Murcia); Raúl Zornoza (Universidad Politécnica de Cartagena); Ángel Faz (Universidad Politécnica de Cartagena); José A. Acosta (Universidad Politécnica de Cartagena); Rafael Sánchez-Medrano (Comunidad Autónoma de la Región de Murcia); María Dolores Gómez (Universidad Politécnica de Cartagena);

Resumen

Las áreas mineras degradadas no rehabilitadas originan un problema de gran relevancia en todo el mundo debido a que los residuos mineros son una fuente de contaminación tanto para la población como para los diferentes eslabones de la cadena trófica por presentar elevados contenidos de metales pesados, de oxyhidróxidos de Fe y sulfuros. Estas zonas mineras se encuentran también afectadas por la dispersión eólica y por la erosión hídrica. La fitoestabilización asistida consiste en el establecimiento de una cubierta vegetal autosustentable, adecuada a los requerimientos del emplazamiento, a través de la incorporación de enmiendas orgánicas/inorgánicas. Las enmiendas permiten mejorar las características físicas, químicas y/o biológicas limitantes del sustrato, asegurando así el establecimiento y el desarrollo de la vegetación a largo plazo. Esta técnica permite reducir la movilidad y biodisponibilidad de contaminantes y recuperar la salud y calidad del suelo.

En este estudio se seleccionó el depósito minero Santa Antonieta, localizado en el Distrito Minero de Cartagena-La Unión (Región de Murcia), para realizar el estudio de fitoestabilización asistida. Diferentes muestreos fueron llevados a cabo: antes de la aplicación, 6, 12, 18 y 24 meses después de la aplicación de residuo de mármol, purín y estiércol porcino. Las propiedades químicas fueron determinadas y la biomasa de la vegetación y las concentraciones de Pb y Zn en diferentes partes de las plantas (raíz, tallo y hoja) fueron analizadas. Los resultados mostraron que el pH, nitrógeno total, capacidad de intercambio catiónico, carbono orgánico total, fósforo disponible y potasio biodisponible se incrementaron, mientras la salinidad disminuyó después de la aplicación de enmiendas. Además, las concentraciones de Pb biodisponible se redujeron de 2019 a $< 1 \text{ mg kg}^{-1}$ y las de Zn de 107 a $< 5 \text{ mg kg}^{-1}$. La mejora de la fertilidad y la reducción de la movilidad de metales pesados favorecieron el desarrollo de la vegetación y el continuo incremento de la biomasa durante los 24 meses después de la aplicación de enmiendas. Las raíces de *Lygeum Spartum* acumularon las mayores concentraciones Pb y Zn (~ 30 y $\sim 60 \text{ mg kg}^{-1}$, respectivamente), mientras que las concentraciones en los tallos fueron inferiores a 2 mg Pb kg^{-1} y 12 mg Zn kg^{-1} . Por su parte, *Cynodon dactylon* acumuló las mayores concentraciones de Pb en raíces (28 mg kg^{-1}) en comparación con las concentraciones registradas en la parte aérea ($< 2 \text{ mg kg}^{-1}$).

Palabras clave: fitoestabilización, enmiendas, depósito minero, metal pesado.

1. Introducción

Las actividades mineras fueron desarrolladas durante más de 2500 años en el distrito minero de Cartagena-La Unión y generaron grandes cantidades de residuos que se acumulaban en los depósitos mineros, que se caracterizaban por presentar una pobre estructura física, intensos procesos de acidificación, bajos contenidos de materia orgánica y nutrientes, elevada salinidad, escasa o nula vegetación y especialmente acumulación de metales pesados (principalmente Pb y Zn). Estos residuos mineros que contienen elementos inorgánicos tóxicos suponen un elevado riesgo para el medio ambiente y la salud pública tras los procesos de dispersión.

El impacto medioambiental causado por el residuo producido por las actividades mineras y metalúrgicas, origina efectos negativos sobre el suelo, los cuerpos de agua (superficial, subterránea y marina), el paisaje, la atmósfera y la biota (Zanuzzi, 2007). Los efectos sobre plantas y animales son una consecuencia directa del grado de ocupación y posterior destrucción del suelo por la realización de canteras, junto con la construcción de los depósitos mineros que conlleva a la desaparición de la cobertura vegetal natural así como la destrucción de los hábitats para la fauna y en última instancia, provocando su desaparición.

El riesgo de erosión hídrica y eólica es uno de los temas ambientales más relevantes debido a sus importantes implicaciones. Los efectos de la erosión de los residuos mineros se manifiestan en la contaminación del suelo, ramblas, medio ambiente marino y la pérdida de la estabilidad de estas estructuras. La intensidad de los vientos es un factor que determina el riesgo de la erosión eólica, que afecta a todas las áreas sin vegetación principalmente a los depósitos mineros por su tamaño fino de partícula, la falta de vegetación y la oxidación de sulfuros a sulfatos. Estos compuestos forman una costra salina de muy baja densidad que se erosiona por el viento, y algunas veces, se transporta largas distancias (Ros, 1997).

Similarmente, la erosión hídrica es la principal contribución de la elevada contaminación del sedimento en las aguas superficiales y marinas, principalmente del Mar menor y la costa Mediterránea (CAAMA, 1999, García y Hernández, 2003; Faz et al., 2004). La escorrentía no solo provoca la erosión de materiales sino también favorece la formación de aguas ácidas. Estas aguas se generan cuando los sulfuros contenidos en las rocas (en el área de estudio predominan: pirita, esfalarita y galena) son expuestos a la acción del agua, el oxígeno y las bacterias, también conocido este proceso como drenaje ácido de mina. Su elevado poder corrosivo, agravado por el contenido de metales pesados origina diferentes efectos tales como la degradación de los sistemas acuáticos (especialmente el Mar menor), la desaparición de la vegetación, la introducción de metales pesados a la cadena alimentaria, la toxicidad del suelo y la pérdida de la capacidad agrícola, entre otros.

Finalmente, mencionar que el impacto asociado con las operaciones mineras llevadas a cabo en la superficie del terreno conlleva la creación de canteras y depósitos mineros que causan cambios en las características visuales del área y modificaciones fisiográficas y alteraciones en la calidad del paisaje, debido a la introducción de colores, texturas, y formas discordantes con el entorno natural (Ros, 1997; Ross, 1999, García y Hernández, 2003).

La fitoestabilización asistida puede ser una solución para reducir el riesgo de la difusión de contaminantes. Esta técnica consiste en la utilización de plantas y enmiendas

orgánicas/inorgánicas. Las plantas elegidas deberían desarrollar un sistema radicular extenso y una gran cantidad de biomasa con la presencia de elevadas concentraciones de metales pesados en el suelo, y la translocación de metales desde las raíces hasta las partes aéreas de la planta tiene que producirse lo más lenta posible y limitar la propagación de los metales a la cadena trófica (Pulford y Watson, 2003 y Rizzi et al., 2004). Además, la cobertura vegetal en los depósitos mineros mejora la comunidad microbiana de los suelos promoviendo el crecimiento de las plantas y contribuye a la estabilización de metales.

Varias enmiendas se han utilizado para estabilizar los metales en suelo (Kumpiene et al. 2008). La aplicación de materiales de residuos orgánicos como enmiendantes del suelo puede disminuir la biodisponibilidad de metales y mejorar las condiciones de fertilidad del suelo, permitiendo la supervivencia de las plantas y su crecimiento (Park et al. 2011). La reducción de la biodisponibilidad de materiales orgánicos se debe a la adsorción sobre las superficies sólidas y la complejación con sustancias húmicas. Este proceso de adsorción depende del metal y del tipo de suelo implicado, el grado de humificación de la materia orgánica, el contenido de metales y sales y los efectos de la materia orgánica sobre el potencial redox y el pH del suelo (Clemente et al. 2005; Shuman 1999; Walker et al. 2004). Además los materiales alcalinos, ricos en carbonatos, tales como residuos del mármol, se utilizan comúnmente como enmienda para reducir las condiciones ácidas de muchos residuos de mina que generan acidez. El uso de enmiendas orgánicas y materiales ricos en carbonatos se han usado en otros estudios exitosamente para reducir la biodisponibilidad de contaminantes y restaurar la función ecológica de los suelos contaminados con metales pesados (Pérez de Mora et al., 2005, 2006; Alvarenga et al., 2008; Zornoza et al., 2011).

El principal objetivo de este estudio fue determinar la efectividad de la aplicación de la fitoestabilización en el depósito minero Santa Antonieta después de cinco muestreos de suelo y vegetación. Los pasos llevados a cabo fueron los siguientes: a) evaluación de los resultados de las propiedades químicas de los suelos mineros, b) análisis de los contenidos totales de metales pesados en suelos y vegetación (raíz, tallo y hoja) y c) determinación de los contenidos de metales disponibles extraídos con CaCl_2 , d) cálculo del índice de biodiversidad, porcentaje de cobertura vegetal, riqueza de las especies plantadas y coeficiente de translocación (CT).

2. Materiales y Métodos

2.1. Zona de estudio

El depósito minero seleccionado se llama Santa Antonieta, localizado en el Distrito Minero de Cartagena- La Unión, Región de Murcia ($37^{\circ} 35' 38''\text{N}$, $0^{\circ} 53' 11''\text{W}$). El clima del área es Mediterráneo semiárido con temperatura media anual de 18°C y precipitación media anual de 275 mm, con eventos de lluvia que ocurren en la mayoría de los casos en otoño y primavera. Las tasas de evapotranspiración potencial sobrepasan los 900 mm año^{-1} . El suelo se clasifica como un Technosol Espólico (Tóxico) (IUSS, 2007), con textura franco arenosa. El suelo minero del depósito Santa Antonieta presenta deficiencias mecánicas, físicas, químicas y biológicas caracterizadas por la inestabilidad y la reducida cohesión del material, con bajos contenidos de nutrientes y materia orgánica y elevados contenidos de metales pesados.

En las áreas más afectadas por la actividad minera, especialmente en las escombreras próximas al depósito minero, caminos, etc., encontramos comunidades vegetales oportunistas, típicas de entornos degradados, tales como triguera (*Piptatherum miliaceum*), mosquera (*Dittrichia Viscosa*), cardo borriquero (*Onopordum macracanthum*), gandul (*Nicotiana glauca*), alcaparra (*Capparis spinosa*), salao (*Atriplex halimus*), morsana (*Zigophyllum fabago*), siempreviva (*Helichrysum decumbens*), albardín (*Lygeum spartum*), entre otras.

2.2. Diseño experimental

Una tercera parte de la superficie del depósito Santa Antonieta donde no se había enmendado ni cultivado fue seleccionada como zona control para el estudio. Y un área próxima al depósito no contaminada y con presencia de vegetación fue utilizada como referencia de suelo local. Para llevar a cabo la caracterización inicial del depósito minero antes de la aplicación de enmiendas (Octubre 2011) y comprobar la evolución de la vegetación y de las propiedades de suelo 6 (Enero 2012), 12 (Julio 2012), 18 (Enero 2013) y 24 meses después de la aplicación de enmiendas (Julio 2013) fueron delimitadas 4 parcelas de 10x10 m en cada zona muestreada (superficie del depósito no enmendada, superficie enmendada y área natural). En cada parcela se seleccionó al azar tres puntos de muestreo y en cada uno de ellos se tomó una muestra de suelo minero superficial (0-15 cm) y otra en profundidad (15-30 cm). Las muestras fueron llevadas al laboratorio, secadas al aire libre durante 7 días, pasadas por un tamiz de 2 mm y almacenadas a temperatura ambiente en una habitación hasta el comienzo de los análisis.

Las siguientes especies fueron plantadas en el depósito Santa Antonieta entre Marzo y Abril del 2012: *Atriplex halimus* L., *Cistus albidus* L., *Helichrysum stoechas* (L.) Moench., *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf., *Lavandula dentata* L., *Lygeum spartum* (L.) Kunth., *Rosmarinus officinalis* L., *Phagnalon saxatile* (L.) Cass. Debido a que el año hidrológico 2011-2012 fue extremadamente seco la siembra de varias especies (*Piptatherum miliaceum*, *Cynodon dactylon*, *Limonium caesium*, *Sonchus tenerrimus*, *Atriplex halimus*) se retrasó a Octubre de 2012 para que la germinación y el crecimiento de las plantas tuviera lugar de forma exitosa.

El estudio de la evolución de la vegetación se llevó a cabo en julio de 2012, enero de 2013 y julio de 2013. En las tres parcelas de muestreo anteriores se recolectaron diferentes partes de las plantas como raíces, tallos y hojas para conocer el contenido de Pb y Zn así como la biomasa, y se concluyó con la determinación del % de cobertura vegetal y la riqueza de las especies vegetales.

En relación a las enmiendas utilizadas para la rehabilitación del depósito, se utilizó residuo de mármol como fuente de carbonatos para neutralizar la acidez, inmovilizar los metales y favorecer la creación de la estructura de suelo, y purín de cerdo como fuente de materia orgánica y nutrientes para el desarrollo del suelo y la colonización de la vegetación. Para una adecuada aplicación de las enmiendas la superficie del depósito minero fue nivelada y se creó un sistema de drenaje para evitar la formación de zonas inundadas que pudieran comprometer la correcta rehabilitación del depósito minero. Además, fue necesaria la mejora de los caminos de acceso al depósito para permitir el paso de los tractores y maquinaria agrícola. La primera aplicación de purín de cerdo fue llevada a cabo en julio 2011 y las posteriores aplicaciones se realizaron en septiembre y

noviembre de 2011. La aplicación del residuo del mármol fue en julio 2011. Las enmiendas fueron mecánicamente aplicadas. Después de la aplicación de enmiendas, todos los materiales se mezclaron a una profundidad de 0-50 cm para incorporar las enmiendas en el suelo. El residuo del mármol se aplicó en una tasa de 6,7 kg m⁻². Esta tasa se calculó utilizando el método propuesto por Sobek et al. (1978), concretamente aplicamos 1,7 L de purín de cerdo por m² en julio de 2011, 2,6 L purín de cerdo por m² en septiembre de 2011 y 7 kg de estiércol de cerdo por m² en noviembre de 2011.

2.3. Parámetros analizados

El pH del suelo y la conductividad eléctrica (CE) se midieron en agua desionizada utilizando una relación suelo:agua de 1:2,5 y 1:5, respectivamente; el carbono orgánico total (COT) y el nitrógeno total (Nt) se midieron con un analizador elemental: CNHS-O (EA-1108, Carlo Erba); la capacidad de intercambio catiónico (CIC) se analizó por el método de Chapman (1965); el fósforo disponible fue medido por el método de Olsen (Watanabe y Olsen, 1965); el potasio intercambiable fue medido por espectrofotómetro de absorción atómica (AAAnalyst 800, Perkin Elmer) en el extracto de BaCl₂ procedente de la medición de la CIC (Chapman, 1965). El carbono soluble (Csol) fue analizado mediante la extracción con 0,5 mol L⁻¹ K₂SO₄ (1:4 peso/volumen) y la medición de la absorbancia a 590 nm después de la oxidación con 1 mol L⁻¹ K₂Cr₂O₇ (Sims y Haby, 1971). Las concentraciones de Pb y Zn totales fueron determinadas usando una digestión de HNO₃/HClO₄ a 210°C durante 1,5 h (Risser y Baker, 1990), los contenidos de Pb y Zn disponibles fueron analizados utilizando como extractante 0,01 M CaCl₂ (1:10 ratio suelo-extractante) (Pueyo *et al.*, 2004). Las concentraciones de los metales fueron medidas utilizando un ICP-MS (Agilent 7500CE). La metodología para las concentraciones de metales totales fue referenciada utilizando Material de Referencia Certificado BAM-U110 (Federal Institute for Materials Research and Testing, Germany).

Todas las especies vegetales recolectadas en el depósito Santa Antonieta fueron identificadas (riqueza) y la cobertura vegetal se estimó por el porcentaje de la superficie total de la parcela cubierta por plantas. Para la determinación de las concentraciones de Pb y Zn en las diferentes partes de las plantas se utilizó el procedimiento establecido por Madrid *et al.* (1996). Los contenidos de metales pesados se determinaron por ICP-MS.

2.4. Análisis estadístico

El ajuste de los datos a una distribución normal para todas las propiedades medidas se comprobó con el test de Kolmogorov-Smirnov. Los datos fueron sometidos a ANOVA unidireccional para evaluar las diferencias encontradas antes y después de la aplicación de enmiendas y entre profundidades. Para el estudio de diferencias significativas entre las variables estudiadas se utilizó el test de Tukey con un nivel de significancia $p < 0,05$. Estos análisis se realizaron con el software IBM SPSS para Windows, versión 22.

3. Resultados y discusión

3.1. Propiedades químicas de suelo

Los resultados sobre las propiedades químicas de los suelos se muestran en la Tabla 1. Inicialmente los valores de pH de las muestras de suelo superficiales y de profundidad (Tabla 1) fueron fuertemente ácidas (alrededor de 3,0), pero después de las aplicaciones de la enmienda orgánica e inorgánica el pH del suelo se incrementó (alrededor de 7,0). Estos incrementos del pH se deben a la presencia de carbonatos en el suelo, que reaccionan con la acidez consiguiendo valores próximos a la neutralidad en el suelo. El pH no mostró diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre las muestras de superficie y profundidad, exceptuando el muestreo inicial de caracterización (1), sin enmiendas. Los contenidos de CaCO_3 se incrementaron con la aplicación del residuo de mármol como era de esperar. Si se comparan los resultados del muestreo inicial (1) y final (5) se observa que los valores fueron nulos en el primer caso y de 5,0 and 3,7 g kg^{-1} en las muestras superficiales y de profundidad en el muestreo final. Por lo tanto, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre el primer muestreo y el resto de muestreos pero, en general, no entre los resultados de ambas profundidades en un mismo muestreo, aunque sí se aprecian cambios entre los contenidos de CaCO_3 de las muestras de superficie y profundidad después de la aplicación del residuo del mármol. Esto puede ser debido a que la aplicación de la enmienda se realizó en la superficie del depósito y el procedimiento de incorporación en el suelo minero para homogeneizar el contenido de la enmienda en los primeros 50 cm no fue tan eficiente como se esperaba.

Los valores de CE no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las profundidades estudiadas para cada muestreo presentando valores alrededor de 3,0 dS m^{-1} en las muestras de superficie y de 4,0 dS m^{-1} en las muestras de profundidad con la aplicación de las enmiendas. Aunque se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados del primer muestreo y el resto de muestreos, no obstante, estas diferencias en los valores de CE no excedían de 1,3 unidades.

El COT y la CIC no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre los valores de ambas profundidades dentro de un mismo muestreo y en general, entre muestreos. Si comparamos los resultados de las muestras superficiales tomadas en el muestreo inicial y final, se comprueba que los valores de COT y CIC se incrementaron de 1,40 a 5,0 g kg^{-1} y de 5,8 a 10,8 g kg^{-1} , respectivamente, mientras en las muestras de profundidad se registraron valores desde 1,71 a 3,7 g kg^{-1} y desde 6,6 a 10,9 g kg^{-1} , respectivamente. Es importante destacar que el incremento de carbono orgánico en suelo rizosférico debido a la liberación de exudados de las raíces puede mejorar la estructura del suelo y proporciona nutrientes para las poblaciones microbianas, siendo la base para garantizar la recuperación del ecosistema (Kabas et al., 2012). Los incrementos de CIC registrados en el depósito Santa Antonieta después de la aplicación de la enmienda orgánica se ven también favorecidos por un aumento del COT en suelo, factor que puede afectar tanto a los niveles de metales intercambiables como solubles (Bulluck et al., 2002; Walker et al., 2004).

El Nt y Csol no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre los valores de ambas profundidades dentro de un mismo muestreo y en la mayoría de los valores entre el muestreo inicial (1) y el resto. Las cantidades de Nt en las muestras de superficie de los muestreos 1 y 5 fueron de 0,35 y 0,55 g kg^{-1} , respectivamente; mientras

que los contenidos de Csol observados en las muestras superficiales de estos dos muestreos fueron de 57,0 y 206,3 mg kg⁻¹, respectivamente.

No habían diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en los valores de fósforo disponible y los contenidos de K intercambiable entre los resultados de ambas profundidades y, en general, entre los valores del muestreo 1 y el resto de los muestreos. En las muestras de superficie, el P disponible se incrementó de 0,5 (muestreo 1) a 12,6 mg kg⁻¹ (muestreo 2), sin embargo en las muestras de profundidad aumentó de 0,03 a 3,99 mg kg⁻¹ (muestreo 2). Respecto al P, se puede señalar que el bajo incremento en la disponibilidad de este elemento observado en los muestreos 3, 4 y 5 en suelo enmendado podría haber sido por dos motivos, la formación de fosfatos de calcio altamente insoluble y el consumo por parte de las plantas y microorganismos que se desarrollan en estos suelos (Sardans et al., 2008). El K intercambiable en las muestras de suelo superficial se incrementó de 0,09 a 0,34 cmol_c kg⁻¹, mientras que en las muestras de profundidad este elemento no experimentó cambios significativos con valores alrededor de 0,100 cmol_c kg⁻¹. El contenido de K intercambiable fue solo superior en las muestras superficiales después de la aplicación de las enmiendas (muestreo 2) registrando un valor medio de 0,34 cmol_c kg⁻¹. La aplicación de purín de cerdo contribuyó positivamente a la mejora de estos dos indicadores de la fertilidad del suelo, ya que esta enmienda es una fuente de nutrientes esencial para la vegetación como son el P y K. Ningún incremento de K en profundidad fue detectado probablemente pudo ser debido a la falta de una adecuada homogeneización del suelo en los primeros 50 cm después de la aplicación de enmiendas. De cualquier manera, este hecho no lo consideramos negativo para el desarrollo de la vegetación, ya que las plantas son capaces de obtener el K de la superficie de depósito, y principalmente los primeros meses después de la plantación ya que el sistema radicular es superficial.

Tabla 1. Propiedades químicas de las muestras de suelo procedente del depósito minero santa Antonieta, valor medio (desviación estándar).

Muestras	Prof. (cm)	COT (g kg ⁻¹)	CaCO ₃ (%)	Nt (g kg ⁻¹)	C sol (mg kg ⁻¹)	pH	CE (dS m ⁻¹)	CIC (cmol+ kg ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)	K (cmol+ kg ⁻¹)
1	0-15	1,4 (0,57)c*	0,0 (0,00)b	0,35 (0,09)d	57,0 (18,94)b	2,9 (0,52)b	4,0 (1,56)a	5,8 (2,50)c	0,50 (1,20)bcd	0,09 (0,05)bc
	15-30	1,7 (0,98)bc	0,0 (0,00)b	0,36 (0,11)cd	67,8 (21,72)ab	3,1 (0,79)b	3,6 (0,78)a	6,6 (3,19)bc	0,03 (0,10)cd	0,11 (0,08)bc
2	0-15	4,5 (2,04)abc	4,4 (3,22)a	0,75 (0,21)ab	49,9 (20,81)b	6,9 (0,40)a	2,7 (0,17)b	10,8 (3,11)ab	12,06 (3,22)a	0,34 (0,10)a
	15-30	3,8 (4,87)abc	2,1 (3,48)ab	0,59 (0,33)abcd	31,7 (17,93)b	5,4 (1,48)ab	3,3 (0,79)ab	9,6 (2,32)abc	3,99 (3,83)ab	0,09 (0,08)bc
3	0-15	6,7 (4,22)a	4,2 (2,25)a	0,91 (0,43)a	74,1 (44,70)b	7,2 (0,29)a	3,1 (0,24)ab	7,9 (1,88)abc	3,94 (7,14)abc	0,15 (0,07)ab
	15-30	4,4 (2,90)abc	2,1 (2,02)ab	0,53 (0,11)abcd	44,0 (23,67)b	6,5 (0,97)a	3,0 (0,16)ab	8,0 (3,10)abc	0,80 (1,08)bcd	0,09 (0,05)bc
4	0-15	3,8 (2,31)abc	4,5 (3,20)a	0,59 (0,14)abc	66,1 (40,88)b	6,8 (1,10)a	2,8 (0,44)b	8,7 (1,86)abc	0,64 (0,70)bcd	0,10 (0,04)bc
	15-30	3,2 (3,58)abc	3,4 (2,26)a	0,45 (0,18)bcd	52,8 (38,47)b	6,3 (1,30)a	3,0 (0,35)ab	8,9 (1,64)abc	0,44 (0,93)d	0,06 (0,03)c
5	0-15	5,0 (2,22)ab	5,1 (3,32)a	0,55 (0,17)abc	206,3 (34,83)a	6,8 (0,42)a	2,7 (2,33)b	10,8 (2,67)a	1,61 (2,58)bcd	0,11 (0,04)bc
	15-30	3,7 (2,54)abc	3,4 (2,76)a	0,39 (0,15)cd	212,7 (55,03)a	6,3 (1,09)a	2,9 (2,26)ab	10,9 (2,51)a	0,34 (0,52)d	0,05 (0,03)c
F valor		5,03**	15,8**	11,5**	14,9**	14,5**	5,70**	4,86**	15,4**	10,3**

*Dentro de cada columna, la desviación estándar seguida de una letra similar indica que no son diferentes significativamente, p<0,05.

3.2. Concentraciones totales y disponibles de Pb y Zn en suelo

Las concentraciones totales iniciales de Pb y Zn en el depósito Santa Antonieta fueron elevadas. Los contenidos medios en las muestras de suelo superficial antes de la aplicación de las enmiendas variaban de 1051 a 1528 mg kg⁻¹ para Pb y de 1176 a 2295 para Zn. Si estos valores son comparados con la normativa establecida en algunos países donde fijan las concentraciones máximas permitidas de estos metales en suelo (Real Decreto 1310/90 en España, el Decreto Ministerial Ministerial (1999) en Dinamarca y por el Ministerio de la Vivienda (1994) en los Países Bajos) se comprueba que el depósito minero Santa Antonieta está muy contaminado por Pb y Zn, y es necesaria una intervención urgente sobre este emplazamiento para su rehabilitación. Por esta razón aplicamos la técnica de fitoestabilización asistida en este depósito minero. Aunque la finalidad de la aplicación de enmiendas y la promoción del desarrollo de la vegetación no es descontaminar esta área afectada, sino inmovilizar y retener los metales del suelo para que estos elementos sean menos disponibles y se minimice la transferencia por erosión y la lixiviación.

Las concentraciones de Pb y Zn disponible disminuyeron con la aplicación de las enmiendas (Figura 1). Esto puede ser debido a diferentes razones tales como los incrementos directos en el pH, la formación de quelatos con la materia orgánica, la formación de carbonatos-metal (suministrado por el residuo del mármol) y la formación de fosfatos-metal (aportado por el purín de cerdo) (Alvarenga et al., 2008; Liu et al., 2009; Zornoza et al., 2013). Zornoza et al. (2013) establecieron que la inmovilización por los carbonatos era necesaria para reducir la disponibilidad de Pb y Zn, sin embargo para la inmovilización de otros metales como el Cd la complejación orgánica y la precipitación como fosfato fueron muy efectivas. Los contenidos de Pb disponible disminuyeron de 1,97 a 0,021 mg kg⁻¹ en superficie (reducción del 99 %), mientras que en profundidad disminuyó de 4,74 a 0,046 mg kg⁻¹ (reducción del 99 %). Por su parte, los contenidos de Zn disponible disminuyeron de 123,0 a 0,558 mg kg⁻¹ en superficie (reducción del 99,5 %), y en las muestras de profundidad los valores descendieron de 191,28 a 17,85 mg kg⁻¹ (reducción del 90,7 %). El pH ácido y el bajo contenido de carbonatos y fosfatos en las muestras de profundidad pueden contribuir a que los metales se encuentren más disponibles. Los resultados mostraron que el purín de cerdo es un buen fertilizante debido a que proporciona elevada cantidad de nutrientes que son necesarios para promover el desarrollo de la vegetación. Por lo tanto, la utilización de este residuo para rehabilitar terrenos degradados es de gran interés, aunque algunos procedimientos, tales como la incorporación de carbonatos se deberían llevar a cabo para minimizar la mineralización de la materia orgánica de este tipo de residuo (Zornoza et al., 2013). Además, Pardo et al. (2011) concluyeron que el uso de purín de cerdo tiene efectos positivos sobre las estrategias de rehabilitación, mejorando las propiedades de suelo y la germinación de semillas. Esto es de especial interés en regiones donde el manejo/gestión del purín de cerdo representa un serio problema medioambiental debido a la enorme cantidad que se genera y a su escasa recuperación. Una de las principales preocupaciones es cómo se puede llevar a cabo una adecuada gestión de este tipo de residuo para que afecte lo menos posible al medioambiente.

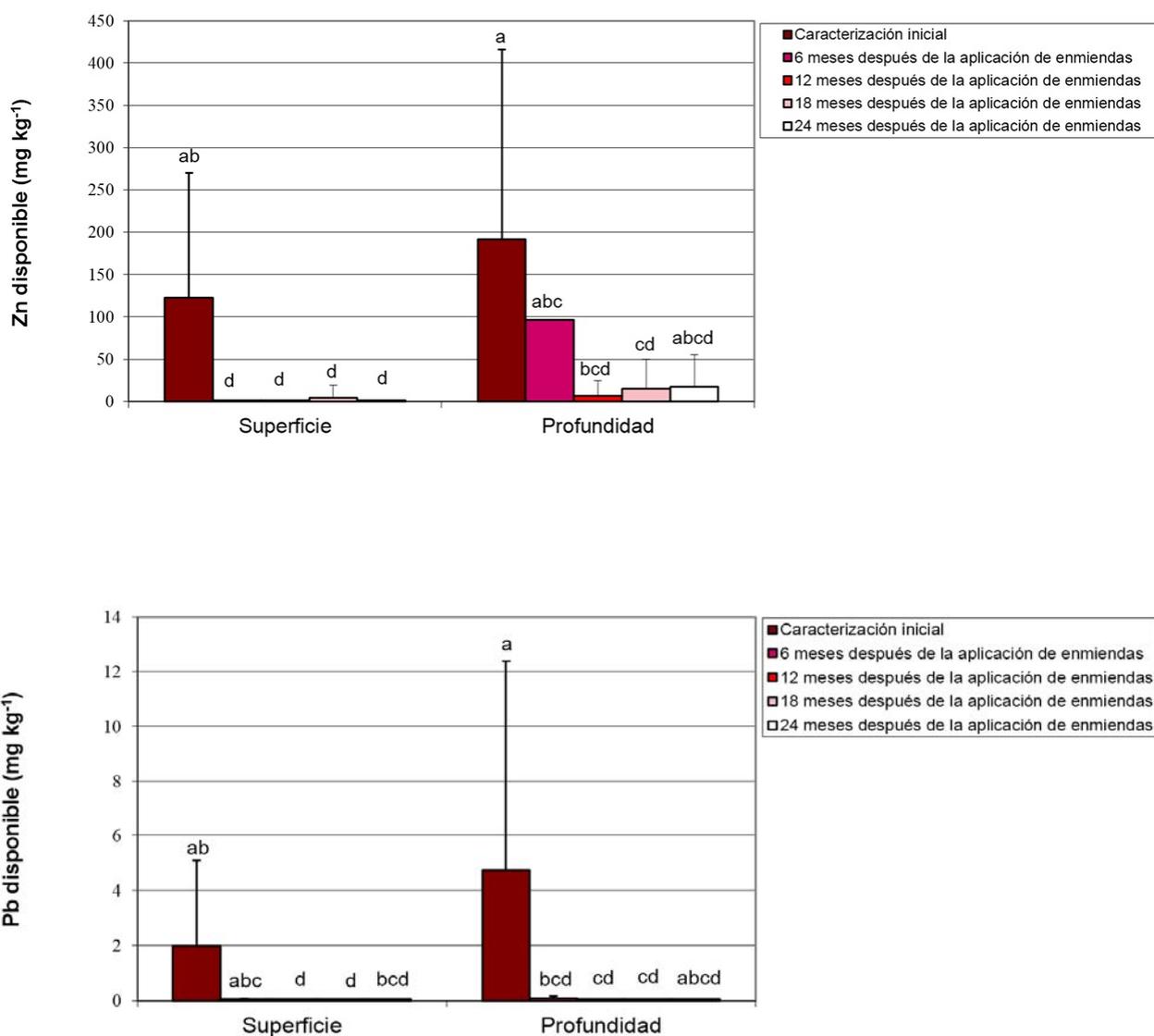


Figura 1. Concentraciones disponibles de Pb y Zn en muestras de suelo tomadas antes de la aplicación de enmiendas y a los 6, 12, 18 y 24 meses después de la aplicación. Las barras de error señalan el error estándar. Las letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas según el Test de Tukey (P<0,05).

3.3. Concentraciones totales de Pb y Zn en plantas

En el último muestreo de vegetación llevado a cabo (Julio 2013) comprobamos que se incrementaron el índice de biodiversidad (H), el porcentaje de cobertura vegetal, la riqueza de las especies de las plantas utilizadas en la fitoestabilización siendo de 1,23, 68 y 17, respectivamente. Además, se incrementaron los valores de biomasa. Los resultados de los contenidos de Pb y Zn en las diferentes partes de la planta (raíz, tallo y hoja) correspondientes al último muestreo se muestran en la Figura 2. Algunas especies de plantas recolectadas en el primer muestreo no fueron encontradas en este último muestreo debido a que se habían secado durante el período de verano. Las concentraciones de elementos en las plantas reflejan la biodisponibilidad de elementos y la habilidad de las plantas para absorber, transportar y acumular los elementos, incluyendo aquellos que pueden ser tóxicos (Lottermoser y Ashley, 2011).

La mejora de la fertilidad y la reducción de la movilidad de los metales favorecen el desarrollo de las plantas y el continuo incremento de la biomasa después de la aplicación de las enmiendas. Las raíces de *Lygeum spartum* acumularon las mayores concentraciones de Pb y Zn (~146 y ~290 mg kg⁻¹, respectivamente), sin exceder las concentraciones de Pb registradas en las raíces de esta planta los valores de toxicidad propuestos por Kabata-Pendias y Pendias (1992) que son de 300 mg kg⁻¹ para Pb y 400 mg kg⁻¹ para Zn. Sin embargo, las concentraciones en los tallos fueron inferiores a 10 mg Pb kg⁻¹ y 60 mg Zn kg⁻¹. *Cynodon dactylon* acumuló elevadas concentraciones de Zn en las raíces y tallos (>250 mg kg⁻¹) sin exceder ninguno de ellos los valores de toxicidad para las plantas. En la Figura 2 se observa que *Helichrisum decumbens* y *Lavandula dentata* acumulaban elevadas concentraciones de Pb en las hojas y *Phagnalon saxatile* elevados contenidos de Zn también en hojas. Pero únicamente *Phagnalon saxatile* excedía el valor de toxicidad de Zn para plantas.

El Coeficiente de Translocación (CT) evalúa la capacidad de las plantas para regular la translocación de un elemento traza desde las raíces hasta las partes aéreas. El CT fue calculado con *Cynodon dactylon*, *Helichrisum decumbens*, *Lavandula dentata* y *Phagnalon saxatile* y los resultados fueron los siguientes: *Cynodon dactylon* <1 para Zn, *Helichrisum decumbens* >1 para Pb, *Lavandula dentata* >1 para Pb y *Phagnalon saxatile* >1. Entre las especies de planta que presentaban el CT >1 solamente *Phagnalon saxatile* sobrepasaba el límite de toxicidad máximo de Zn para la mayoría de los animales domésticos (500 mg kg⁻¹), tales como cabra y oveja (NCR, 2005). Por lo tanto, esta planta se debería retirar de la superficie del depósito Santa Antonieta.

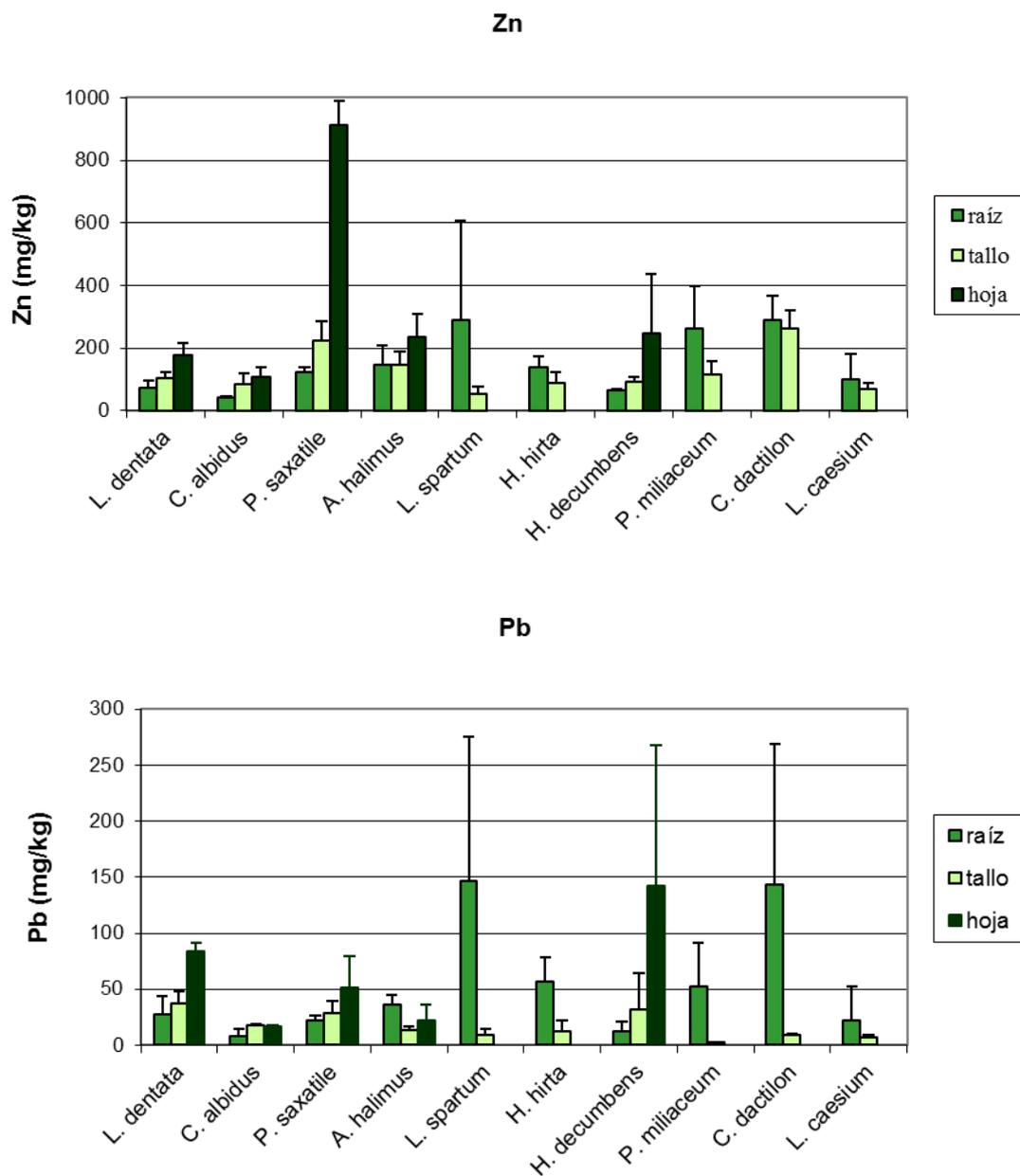


Figura 2. Concentraciones de Pb y Zn en raíz, tallo y hoja de diferentes plantas utilizadas en la fitoestabilización del depósito minero Santa Antonieta.

4. Conclusiones

Con la finalidad de llevar a cabo un uso funcional y sostenible en un emplazamiento minero como es el caso del depósito minero con un elevado nivel de contaminación, en primer lugar se deben reducir los riesgos ambientales mediante adecuadas actividades de rehabilitación y el diseño del paisaje se tiene que llevar a cabo en función de las nuevas condiciones de la zona. Según las propuestas anteriores se ha desarrollado una estrategia de rehabilitación en el depósito Santa Antonieta, ubicado en el distrito de Cartagena-La Unión (Región de Murcia). En este estudio se comprobó que el residuo del mármol y el purín de cerdo actuaban como estabilizadores químicos de metales pesados y redujeron la disponibilidad y la movilidad de los metales pesados. Las especies vegetales utilizadas demostraron la capacidad de actuar como estabilizadores físicos, incluso en presencia de altas concentraciones de Pb y Zn en el depósito minero Santa Antonieta. *Lygeum spartum* y *Cynodon dactylon* son apropiados para la fitoestabilización asistida en las zonas mineras enriquecidas con estos metales pesados.

No obstante sería interesante llevar a cabo nuevos muestreos de suelo y vegetación para seguir estudiando a largo plazo la evolución de las propiedades de suelo, las concentraciones de metales pesados y los efectos de las especies vegetales y estas enmiendas bajo condiciones de campo que permitan una comprensión más profunda de los resultados ecotoxicológicos.

5. Agradecimientos

Este trabajo ha sido cofinanciado por la Unión Europea a través de un proyecto LIFE+ MIPOLARE (LIFE09 ENV/ES/000439).

6. Referencias

- Alvarenga, P., Palma, P., Gonçalves, A.P., Baião, N., Fernandes, R.M., de Varennes, A., Vallini, G., Duarte E. y Cunha-Queda, A.C. 2008. Assessment of chemical, biochemical and ecotoxicological aspects in a mine soil amended with sludge of either urban or industrial origin. *Chemosphere* 72: 1774-1781.
- Bulluck, L.R., Brosius, M., Evanylo, G.K., Ristaino, J.B. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology* 19: 147-160.
- CAAMA. 1999. Guía ambiental de minería en la Región de Murcia. Consejería de Agricultura Agua y Medio Ambiente de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia. 279 pp.
- Chapman, H.D. 1965. Cation Exchange Capacity. pp. 891-900. In: C. A. Black (ed.). *Methods of Soil Analysis*. American Society of Agronomy. Madison. Wisconsin.
- Clemente, R., Walker, D.J. y Bernal, M.P. 2005. Uptake of heavy metals and As by *Brassica juncea* grown in a contaminated soil in Aznalcóllar (Spain): the effect of soil amendments. *Environ Pollut* 138:46-58.
- Faz, A., Martínez-Martínez, S., Acosta, J.A. Peñas, J., Aracil, E., Alcaraz, M., Conesa, H., García, G. García, C. Manteca, I. Martínez, P., Martínez, M., Rodríguez, T., Rodríguez

- R. y Trigueros. E. 2004. Risk assessment and restoration possibilities of some abandoned mining silt ponds in the region de Murcia: study case "El Lirio". Fourth International Conference on Land Degradation. Cartagena. 357 pp.
- García, C. y Hernández. T. 2003. Introduction. In: García. C., Gil. F., Hernández. T., Trasar. C. (Eds.). Técnicas de Análisis de Parámetros Bioquímicos en Suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Ediciones Mundi Prensa. Murcia.
- IUSS. 2007. World Reference Base for Soil Resources 2006. First update 2007. World Soil Resources Reports No. 103. FAO. Rome.
- Kabas, S. Faz, A. Acosta, J.A. Zornoza, R. Martínez-Martínez, S. Carmona, D.M. y Bech J. 2012. Effect of marble waste and pig slurry on the growth of native vegetation and heavy metal mobility in a mine tailing pond. *Journal of Geochemical Exploration* 123: 69–76.
- Kabata-Pendias, A. y Pendias, H., 1992. Trace Elements in Soils and Plants, 2nd Edition, CRC Press, Boca Ratón, Florida, 315pp.
- Kumpiene, J., Lagerkvist, A. y Maurice, C. 2008. Stabilization of As. Cr. Cu. Pb and Zn in soil using amendments—a review. *Waste Manag* 28: 215–225.
- Liu, L., Chen, H., Cai, P., Liang, W. y Huang, Q. 2009. Immobilization and phytotoxicity of Cd in contaminated soil amended with chicken manure compost. *Journal of Hazardous Materials* 163: 563-567.
- Lottermoser B.G. y Ashley PM. 2011. Trace element uptake by *Eleocharis equisetina* (spike rush) in an abandoned acid mine tailings pond, northeastern Australia: Implications for land and water reclamation in tropical regions. *Environmental Pollution* 159 (10): 3028–3035.
- Madrid, A., R. Madrid, R. y Vicente, J.M. 1996. Fertilizantes. AMV Ediciones y Mundi-Prensa, Madrid, España, 436 p.
- NRC. 2005. Mineral Tolerance of Animals. 2 ed. The National Academies Press. USA. 292 p.
- Pardo, T., Clemente, R. y Bernal, M.P. 2011. Effects of compost, pig slurry and lime on trace element solubility and toxicity in two soils differently affected by mining activities. *Chemosphere* 54: 642-650.
- Park, J.H., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N. y Chung, J.W. 2011. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils. *J Hazard Mater* 185:549–574.
- Pérez de Mora, A., Burgos, P., Madejón, E., Cabrera, F., Jaeckel, P. y Schloter, M. 2006. Microbial community structure and function in a soil contaminated by heavy metals: effects of plant growth and different amendments. *Soil Biology y Biochemistry* 38: 327-341.
- Pérez de Mora. A., Ortega-Calvo, J.J., Cabrera, F y Madejón, E. 2005. Changes in enzyme activities and microbial biomass after "in situ" remediation of a heavy metal-contaminated soil. *Applied Soil Ecology* 28: 125-137.
- Pueyo, M., López-Sánchez, J.F. y Rauret, G. 2004. Assessment of CaCl₂. NaNO₃ and NH₄NO₃ extraction procedures for the study of Cd. Cu. Pb and Zn extractability in contaminated soils. *Analytica Chimica Acta* 504: 217–226.
- Pulford, I.D y Watson, C. 2003. Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees – a review. *Environ. Int.* 29: 529–540.

- Risser, J.A. y Baker, D.E.1990. Testing soils for toxic metals. pp. 275-298. In R. L. Westerman (ed.). Soil Testing and plant analysis. Soil Science Society of America Special Publication 3. Madison. Wisconsin.
- Rizzi, L., Petruzzelli, G., Poggio, G. y Guidi, V. 2004. Soil physical changes and plant availability of Zn and Pb in a treatability test of phytostabilization. *Chemosphere* 57: 1039–1046.
- Ros, M. 1997. Estudio de paisajes para una aproximación a la ordenación ambiental de la minería a cielo abierto en la Región de Murcia. Tesis doctoral. Univ. Murcia. 494 pp.
- Ross, C. 1999. Mine revegetation in Nevada: the state of the art in the arid zone. Pages 71–76 in Kosich, D., and G.Miller, editors. *Closure, remediation and management of precious metal heap leach facilities*. Center for Environmental Sciences and Engineering, University of Nevada, Reno.
- Sardans, J., Peñuelas, J., Prieto, P. y Estiarte, M. 2008. Drought and warming induced changes in P and K concentration and accumulation in plant biomass and soil in a Mediterranean shrubland. *Plant and Soil* 306 (1-2): 261-271.
- Shuman, L.M. 1999. Organic waste amendments effect on zinc fractions of two soils. *J Environ Qual* 28:1442–1447.
- Sims, J.R. y Haby, V.A. 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil Sci.* 112: 137–141.
- Sobek, A.A., Schuller, W.A., Freeman J.R. y Smith, R.M. 1978. Field and laboratory methods applicable to overburdens and mine soils. EPA-600/2-78-054.
- Walker, D.J., Clemente, R. y Bernal, M.P. 2004. Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L. in a soil contaminated by pyritic mine waste. *Chemosphere* 57:215–224.
- Watanabe, F.S. y Olsen, S.R. 1965. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO₃ extracts from soil. *Soil Science Society of America Proceedings* 29: 677- 678.
- Zanuzzi, A. 2007. Reducción de Impactos Ambientales Asociados a Suelos Contaminados Mediante el Uso de Residuos Antropogénicos. Tesis Doctoral Universidad Politécnica de Cartagena. Noviembre.
- Zornoza, R., Carmona, D.M., Acosta, J.A., Martínez-Martínez, S., Weiss, N. y Faz, A. 2011. The effect of former mining activities on contamination dynamics in sediments, surface water and vegetation in El Avenque stream, SE Spain. *Water, Air and Soil Pollution* 223: 519-532.
- Zornoza, R., Faz, A., Carmona, D.M., Acosta, J.A., Martínez-Martínez, S. & de Vreng, A. 2013. Carbon mineralization, microbial activity and metal dynamics in tailing ponds amended with pig slurry and marble waste. *Chemosphere* 90(10): 2600-2613.