

# Recuperación de la biodiversidad funcional de los residuos de minas de oro mediante fitorremediación asistida

## Recovery of gold mine tailings functional biodiversity by assisted phytoremediation

Alberto Cabezas-López<sup>1</sup>, Bibiana Caballero-Mejía<sup>1,2</sup>, Javier Pérez-Esteban<sup>3</sup>, Mariela Navas<sup>4</sup> & Ana Moliner<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Dpto. Producción Agraria, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica Alimentaria y de Biosistemas, Universidad Politécnica de Madrid. Avda. Puerta de Hierro, 2, 28040 Madrid, España

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias, Escuela de Geociencias. Universidad Nacional de Colombia (Medellín), Colombia

<sup>3</sup> Dpto. Química Orgánica y Biorgánica. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Educación a Distancia. Paseo de Senda del Rey, 9, 28040 Madrid, España

<sup>4</sup> Dpto. Investigación Aplicada y Extensión Agraria, IMIDRA, Finca El Encín. Autovía A2, km 38,2. Apto. 127, 28800 Alcalá de Henares, Madrid, España

(\*E-mail: ana.moliner@upm.es)

<https://doi.org/10.19084/rca.28701>

### RESUMEN

Los microorganismos juegan un papel importante en las funciones del suelo. Sin embargo, muchas veces su actividad se ve afectada por la contaminación derivada de las actividades humanas. Una de las actividades con mayor impacto sobre el medio ambiente es la minería, y más concretamente la minería a pequeña escala debido a su falta de regulación, que la convierte en un foco de contaminación como consecuencia del manejo inadecuado de los residuos. Con el fin de evaluar el efecto de la fitorremediación asistida por microorganismos y una enmienda orgánica en la diversidad funcional de dichas arenas de relave, se llevó a cabo un ensayo de fitorremediación en microcosmos en el municipio de Buriticá en Colombia, región muy afectada por minería informal. En el ensayo se utilizó una leguminosa, *Enterolobium cyclocarpum* en macetas con arena de relave y arena de relave enmendada, junto con distintos microorganismos (micorrizas y fijadores de nitrógeno). El ensayo se mantuvo 240 días. Los resultados del estudio demostraron que los suelos enmendados presentaron una mayor diversidad funcional que aquellos sin enmendar siendo las diferencias significativas. Dicho efecto no se vió aumentado tras la aplicación de inóculos, e incluso se observaron valores de diversidad menores. Se discuten las posibles causas e implicaciones de dichas variaciones

**Palabras clave:** Fitorremediación de elementos traza, enmiendas, inóculos, perfil metabólico

### ABSTRACT

Microorganisms play an important role in soil functions. However, their activity is often affected by pollution from human activities. One of the activities with the greatest impact on the environment is mining, and more specifically small-scale mining due to its lack of regulation, which makes it a source of contamination, as a consequence of inadequate waste management. In order to evaluate the effect of phytoremediation assisted by microorganisms and an organic amendment on the functional diversity of these tailings sands, a microcosm phytoremediation trial was carried out in the municipality of Buriticá in Colombia, a region highly affected by informal mining. The trial used a legume, *Enterolobium cyclocarpum*, in pots with mine tailings and tailings amended with compost, together with different microorganisms (mycorrhizae and nitrogen fixers). The test was maintained for 240 days. The results of the study showed that the amended soils presented a greater functional diversity than the unamended soils, and the differences were significant. This effect was not increased after inoculum application, and even lower diversity values were observed. The possible causes and implications of these variations are discussed.

**Keywords:** Trace metal phytoremediation, amendments, inoculation, metabolic profile

## INTRODUCCIÓN

La minería informal de oro deja cantidades importantes de relaves con elevado contenido de elementos traza que conducen a una pérdida de la funcionalidad del suelo y del ecosistema. Además, dichos elementos son susceptibles de ser transportados por erosión hídrica o eólica hacia zonas más bajas y contaminar cultivos y cursos de agua. La fitorremediación es una estrategia respetuosa con el medio ambiente y socialmente aceptada. Dentro de las diversas técnicas que comprende, actualmente se prefiere la fitoestabilización que favorece la inmovilización de los elementos traza en la rizosfera (Moreira *et al.*, 2021).

La presencia de elementos traza en el suelo derivada de esta actividad, supone un efecto negativo en la estructura de las comunidades microbianas del suelo, disminuyendo el número y diversidad de especies, creando un problema para el estado de salud del suelo. No obstante, muchos de estos microorganismos son capaces de tolerar ciertos niveles de contaminantes al desarrollar mecanismos de resistencia, llegando a ocasionar cambios en la huella metabólica (Tischer *et al.*, 2008). Microorganismos adaptados a estos ambientes, son capaces de mejorar la transferencia y movilización e inmovilización de los elementos traza modificando las propiedades químicas del suelo (Sessitsch *et al.*, 2013) a través de numerosas vías de detoxificación de elementos traza que pueden condicionar a su biodisponibilidad. Los microorganismos de la rizosfera, son los que más afectan el desarrollo vegetal debido a su contacto directo con las raíces de las plantas (Sugiyama, 2019).

El análisis funcional de la comunidad microbiana se puede considerar como una alternativa para estimar la diversidad, ya que se basa en las características metabólicas de los microorganismos. La diversidad funcional tiene en cuenta la capacidad metabólica de todo el conjunto de microorganismos. No considera la identificación taxonómica, ni requiere aislar microorganismos (Sofó & Ricciuti, 2019). Además, se ha observado que la actividad catabólica mejora en suelos en los que se aplicó fitoremediación (Couic *et al.*, 2022).

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de la fitoestabilización de arenas de relave, asistida por

la adición de una enmienda orgánica y microorganismos, en la diversidad funcional del suelo, estudiando las posibles interacciones entre la microbiota autóctona y la aportada por enmiendas e inóculos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio fue llevado a cabo en el municipio de Buriticá, situado al noroeste de Colombia. En concreto, en el recinto de la empresa Zijin Continental Gold en la faja media del Río Cauca, y con una elevación entre 600 y 2200 m.

Se realizó un ensayo de fitorremediación en microcosmos, en un invernadero sombreado dentro del recinto minero. Se utilizaron arenas procedentes de relaves de minería informal, surgida alrededor de la mina, enmienda orgánica comercial a base de gallinaza compostada con una relación C/N de 10. Además, dos inóculos comerciales, uno basado en bacterias fijadoras de nitrógeno [FN] y otra de hongos micorrízicos [M]. Se utilizaron plántulas de *Enterolobium cyclocarpum*, obtenidas en el mismo recinto, en un sustrato formado por suelo no contaminado y la misma enmienda orgánica a base de gallinaza compostada utilizada en el ensayo. Se utilizó un diseño factorial de 2x2x2 (arena de relave sin enmienda y con 5% de enmienda orgánica [A y A+MO], sin y con bacterias fijadoras de nitrógeno [0 y FN] y sin y con micorrizas [0 y M], todo por triplicado. El ensayo se mantuvo durante 240 días tras los cuales se procedió a la separación del suelo rizosférico.

Para evaluar el perfil metabólico del suelo rizosférico, se empleó la técnica de Biolog Ecoplates™, basada en la capacidad de los microorganismos para oxidar diferentes sustratos de carbonos (Lebrun *et al.*, 2021). Se siguió el protocolo del fabricante con pequeñas modificaciones. Tras ello se procesaron los datos obtenidos y se calcularon distintos índices que aportan información sobre el perfil fisiológico y actividad metabólica de la comunidad microbiana (Burgos *et al.*, 2017; Sofó & Ricciuti, 2019).

El análisis estadístico se realizó con el programa Stagraphics 19, utilizando un ANOVA de 3 factores mediante el Modelo Lineal General ( $p < 0,05$ ). La distribución normal se comprobó con el test de Shapiro-Wilk's y la homogeneidad de la varianza

usando el test de Levene, usando la transformación de Box-Cox en caso necesario.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra la caracterización de la muestra compuesta de arenas de relave, MO y la mezcla previamente al ensayo y la caracterización del sustrato de las macetas al final del ensayo.

**Tabla 1** - Propiedades químicas de los sustratos (SUST) antes y después del ensayo para los distintos tratamientos y biomasa total de *Enterolobium cyclocarpum* (A: arena de relave; MO: enmienda orgánica; FN bacterias fijadoras de nitrógeno, M hongos micorrízicos)

	SUST	FN	M	pH	MO (%)	Biomasa
ORIGINAL	A			2,4	0,53	-
	MO			8,4	25,9	-
	A+MO			4,4	2,7	-
POST-CULTIVO	A	0	0	2,7	0,80	3,0
		0	M	2,6	0,75	1,7
		FN	0	2,7	0,61	2,3
		FN	M	2,7	0,84	3,6
	A+MO	0	0	3,8	3,17	3,2
		0	M	3,4	3,30	3,1
		FN	0	2,9	2,50	1,7
		FN	M	4,3	3,93	7,6

La arena de relave tenía un pH extremadamente bajo por lo que la enmienda orgánica contribuyó no sólo a incrementar el contenido en materia orgánica, sino que aumentó los valores de pH. Respecto al desarrollo vegetal, en ausencia de enmienda orgánica, sólo la mezcla de microorganismos incrementó la biomasa seca. Los inóculos por separado, disminuyeron la biomasa. Respecto al sustrato enmendado, la aplicación de bacterias disminuyó la biomasa, la aplicación de hongos no tuvo ningún efecto y la aplicación del consorcio de microorganismos, provocó un aumento considerable de la biomasa, pero solo se desarrolló la planta de una de las tres macetas.

Los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad, mostraron diferencias en la diversidad funcional

microbiana entre aquellos suelos cuyo sustrato fue de arena sola en comparación con aquellos que combinaron arena con materia orgánica, demostrando que la aplicación de enmiendas orgánicas conduce a una mayor diversidad microbiana (Tabla 2), así como una tasa de utilización de los sustratos más rápida en los enmendados.

**Tabla 2** - Efecto del sustrato e inóculos (FN y M) en el color medio de pozo (AWCD), riqueza (S), índice de biodiversidad de Shannon (H'), índice de biodiversidad de Simpson (D) e Índice de equitatividad (valores medios  $\pm$  desviación típica) del suelo rizosférico de *Enterolobium cyclocarpum* en arenas enmendadas y sin enmendar

SUST	FN	M	AWCD	S	H'	D	E
A	0	0	0,29	13,7	2,45	11,7	0,965
	0	M	0,02	0,33	0,00	0,33	0,000
	FN	0	0,08	3,5	0,96	3,27	0,492
	FN	M	0,19	6,67	0,95	5,26	0,319
A+MO	0	0	0,87	25,3	3,13	21,3	0,969
	0	M	0,25	13,5	2,47	11,3	0,972
	FN	0	0,71	20,0	2,78	17,0	0,973
	FN	M	1,45	30,0	3,33	26,8	0,979

Dentro de la arena de relave sin enmendar, la adición de inóculos tuvo un efecto negativo en la actividad catabólica del suelo rizosférico, es decir, la adición de microorganismos extraños disminuyó la actividad catabólica como se refleja en la disminución del AWCD. Lo mismo ocurre con el resto de los índices evaluados. Este hecho podría deberse a que los ecotipos de suelos contaminados con elementos traza, han desarrollado resistencia y son más tolerantes. La aplicación de inóculos comerciales puede provocar un desequilibrio que conduce a una actividad metabólica menor.

Por otra parte, a pesar de que en general la adición de materia orgánica produjo una actividad metabólica superior, la adición de inóculos individualmente, redujo la actividad y la diversidad. En este caso, los inóculos compiten tanto con los microorganismos autóctonos de las arenas de relave como con los que provienen de la enmienda añadida y reducen la capacidad de metabolizar sustratos. Sin embargo, el consorcio de ambos, que ya había producido una biomasa vegetal mayor, contribuyeron

a una mayor capacidad de uso de los sustratos. En este caso, una mayor producción de exudados radiculares puede contribuir a la inmovilización de elementos traza y traducirse en una actividad metabólica mayor.

Al agrupar los sustratos por categorías (carbohidratos, aminoácidos, ácidos carboxílicos, polímeros, aminas y amidas) se observó que los carbohidratos y los aminoácidos fueron metabolizados con mayor rapidez tanto en arenas enmendadas como sin enmendar.

## CONCLUSIONES

En conclusión, nuestro estudio demuestra los efectos positivos de la aplicación de enmiendas orgánicas sobre material de escombrera, estimulando la actividad microbiana y regulando la estructura y

composición de la comunidad. No fue tan evidente el efecto de microorganismos comerciales, posiblemente por no estar adaptados a estos ambientes tan inhóspitos, aunque el consorcio de inóculos produjo una mayor biomasa vegetal y capacidad metabólica en arenas enmendadas, pero solo una de las tres plantas fue capaz de desarrollarse.

## AGRADECIMIENTOS

Los investigadores agradecen a la empresa Zijin Continental Gold, Buriticá, Antioquia (Colombia), la cooperación del personal de la empresa, así como el uso de sus instalaciones para el ensayo en microcosmos. También agradecen el apoyo económico y la ayuda para la Realización de Trabajo Fin de Master en Cooperación Internacional para el Desarrollo Sostenible (TFT-CIDS) de la UPM a uno de los investigadores

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burges, A.; Epelde, L.; Blanco, F.; Becerril, J. & Garbisu, C. (2017) - Ecosystem services and plant physiological status during endophyte-assisted phytoremediation of metal contaminated soil. *Science of the Total Environment*, vol. 584-585, p. 329-338. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.146>
- Couic, E.; Tribondeau, A.; Alphonse, V.; Livet, A. & Bousserhine, N. (2022) - Positive Effect of Ecological Restoration with Fabaceous Species on Microbial Activities of Former Guyanese Mining Sites. *Molecules*, vol. 27, n. 6, art. 1768. <https://doi.org/10.3390/molecules27061768>
- Lebrun, M.; Miard, F.; Bucci, A.; Fougère, L.; Nandillon, R.; Naclerio, G.; Scippa, G.S.; Destandeu, E.; Morabito, D. & Bourgerie, S. (2021) - The rizosphere of *Salix viminalis* plants after a phytostabilization process assisted by biochar, compost, and iron grit: chemical and (micro)-biological analyses. *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 28, p. 47447-47462. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14113-z>
- Moreira, H.; Mench, M.; Pereira, S.; Garbisu, C.; Kidd, P. & Castro, P. (2021) - Phytomanagement of Metal(loid)-Contaminated Soils: Options, Efficiency and Value. *Frontiers in Environmental Science*, vol. 9, art. 661423. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.661423>
- Sessitsch, A.; Kuffner, M.; Kidd, P.; Vangronsveld, J.; Wenzel, W.; Fallmann, K. & Puschenreiter, M. (2013) - The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biology & Biochemistry*, vol. 60, p. 182-194. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.01.012>
- Sofo, A. & Ricciuti, P. (2019) - A standardized method for estimating the functional diversity of soil bacterial community by Biolog® EcoPlates™ assay-the case study of a sustainable olive orchard. *Applied Sciences*, vol. 9, n. 19, art. 4035. <https://doi.org/10.3390/app9194035>
- Sugiyama, A. (2019) - The soybean rhizosphere: Metabolites, microbes, and beyond-A review. *Journal of Advanced Research*, vol. 19, p. 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.005>
- Tischer, S.; Tanneberg, H. & Guggenberger, G. (2008) - Microbial parameters of soils contaminated with heavy metals: assessment for ecotoxicological monitoring. *Polish Journal of Ecology*, vol. 56, n. 3, p. 471-479.