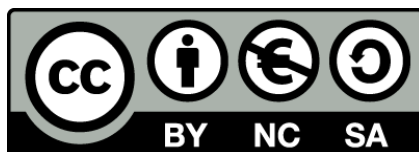




UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Mejoramiento de la fitoextracción en plantas nativas en suelos contaminados por actividades mineras en Puchuncaví y Quintero

María Isabel González Miranda



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – Compartir Igual 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – Compartir Igual 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0. Spain License.**

**TESIS DOCTORAL**

**MEJORAMIENTO DE LA FITOEXTRACCIÓN EN  
PLANTAS NATIVAS EN SUELOS CONTAMINADOS POR  
ACTIVIDADES MINERAS EN PUCHUNCAVÍ Y  
QUINTERO**

**MARIA ISABEL GONZALEZ MIRANDA**

**UNIVERSITAT DE BARCELONA  
2016**



**UNIVERSITAT DE BARCELONA  
FACULTAT DE GEOGRAFIA I HISTÒRIA  
PROGRAMA DE DOCTORAT  
“GEOGRAFIA, PLANIFICACIÓ TERRITORIAL I GESTIÓ AMBIENTAL”  
CURS ACADÈMIC: 2009-2011**

**MEJORAMIENTO DE LA FITOEXTRACCIÓN EN  
PLANTAS NATIVAS EN SUELOS CONTAMINADOS  
POR ACTIVIDADES MINERAS EN PUCHUNCAVÍ Y  
QUINTERO**

**MARÍA ISABEL GONZÁLEZ MIRANDA**

**DIRECTORES**

**DRA. AMPARO CORTES LUCAS  
DR. ALEXANDER NEAMAN**

**TUTOR**

**PATRICIO RUBIO ROMERO**

**BARCELONA, 2016**



## AGRADECIMIENTOS

A Alexander Neaman, profesor de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, que me apoyó en este proceso y de quien aprendí la perseverancia y el rigor que el trabajo científico requiere.

Al Laboratorio de Suelos y Análisis foliar de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, quienes me colaboraron en realizar todos los análisis que esta tesis requirió.

A la profesora Amparo Cortes, por el exhaustivo trabajo que realizó en la corrección de mi tesis, mejorando considerablemente su nivel, y por sus amables consejos que me ayudaron anímicamente a terminar este proceso.

Al profesor Patricio Rubio, por su constancia en alentarme y guiarme en terminar este trabajo.

A mi lugar de trabajo actual, el Centro Regional de Innovación Hortofrutícola y en especial a su gerente Raúl Ortiz, quienes me otorgaron todas las facilidades en tiempo y recursos, para finalizar esta etapa de mi vida.

A mi compañero de vida, quien me entregó toda su comprensión y su apoyo en el proceso final de mi tesis, regalándome mucho de su tiempo libre para realizar gestiones para poder entregar esta tesis a tiempo. Te amo cada día más.

Y a mi familia, en especial a mis abuelos, quienes ya no están en esta tierra, pero que me enseñaron que hiciera lo que hiciera siempre debía dar mi mejor esfuerzo por ser la mejor. Sé que estarían muy orgullosos de mí.



## INDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
CAPITULO I : BIOREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR COBRE Y SU COMPARACIÓN CON TÉCNICAS TRADICIONALES .....	9
<b>1.1. Biorremediación microbiana de suelos con metales</b> .....	11
1.1.1 Lixiviación microbiana .....	12
1.1.2 Biosorción (bioadsorción) y bioacumulación.....	13
1.1.3 Bioprecipitación microbiana.....	16
<b>1.2. Fitorremediación</b> .....	17
1.2.1. Concepto .....	17
1.2.2. Historia de la fitorremediación .....	17
1.2.3. Técnicas de fitorremediación para suelos contaminados por metales	18
1.2.4. Evolución y ecología de la tolerancia a los metales.....	40
1.2.5. Ventajas y desventajas de la fitoextracción v/s fitoestabilización.....	41
<b>1.3. El mercado de la bio y fitorremediación de suelos v/s el mercado de la remediación tradicional en el mundo y Chile</b> .....	42
1.3.1 El mercado actual de las técnicas de remediación tradicional de suelos	42
1.3.2 El mercado de la biorremediación microbiana de suelos con metales en el mundo y en Chile. ....	43
1.3.3 El mercado de la fitorremediación en el mundo .....	44
<b>1.4. Ventajas y desventajas de la fitorremediación en comparación a técnicas tradicionales de remediación y biorremediación microbiana</b> .....	45
<b>1.5. Bibliografía específica</b> .....	49
CAPITULO II: LA INVESTIGACIÓN Y APLICACIÓN DE LA FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS EN EL MUNDO, EN CHILE Y EN EL ÁREA DE ESTUDIO .....	65
<b>2.1. Experiencias prácticas de fitorremediación de suelos con cobre en el mundo</b> .....	67
<b>2.2. Investigación y aplicación desarrollada en fitorremediación en Chile</b>	76
2.2.1. Investigación y aplicación en fitoestabilización de relaves y suelos... 76	
2.2.2. Investigación y aplicación en fitoextracción de suelos .....	79
<b>2.3. La oportunidad que ofrece la fitorremediación en Chile en el contexto socio-político actual</b> .....	81
<b>2.4. Bibliografía específica</b> .....	82
CAPÍTULO III: AREA DE ESTUDIO: CONTAMINACIÓN POR COBRE EN LA COMUNA DE PUCHUNCAVÍ Y QUINTERO, REGIÓN DE VALPARAÍSO .....	87
<b>3.1. El paisaje de Puchuncaví y Quintero</b> .....	89
3.1.1. Ubicación administrativa y características generales .....	89
3.1.2. Características demográficas y político-administrativas .....	90
3.1.3. Clima.....	92



3.1.4.	Geomorfología.....	98
3.1.5.	Instrumentos de Planificación Territorial: uso del suelo actual y futuro	100
3.1.6.	Caracterización de los suelos de la zona.....	104
3.1.7.	Vegetación.....	110
<b>3.2.</b>	<b>Contaminación por cobre en las comunas de Puchuncaví y Quintero</b>	<b>112</b>
3.2.1.	Origen y evolución de la contaminación.....	112
3.2.2.	Caracterización de la contaminación actual en Puchuncaví.....	119
3.2.3.	Efectos de la contaminación por Cu en Puchuncaví y Quintero .....	127
<b>3.3.</b>	<b>El costo ambiental del desarrollo económico nacional reflejado en Puchuncaví y Ventanas</b>	<b>129</b>
<b>3.4.</b>	<b>Bibliografía citada.....</b>	<b>130</b>
CAPITULO IV: JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....		135
<b>4.1.</b>	<b>Justificación de la investigación</b> .....	<b>137</b>
<b>4.2.</b>	<b>Hipótesis</b> .....	<b>139</b>
<b>4.3.</b>	<b>Objetivo general</b> .....	<b>139</b>
<b>4.4.</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>140</b>
CAPITULO V: MATERIALES Y MÉTODOS .....		145
<b>5.1.</b>	<b>Áreas de muestreo y ubicación de ensayos</b> .....	<b>147</b>
<b>5.2.</b>	<b>Determinación de los valores objetivo en base a la estimación del valor background de Cu disponible</b> .....	<b>148</b>
<b>5.3.</b>	<b>Caracterización inicial de los suelos</b> .....	<b>149</b>
<b>5.4.</b>	<b>Especies metalófitas a utilizar</b> .....	<b>151</b>
5.4.1.	<i>Oenothera picensis</i> Phil.....	151
5.4.2.	<i>Argemone Subfusiformis</i> Ownbey.....	152
5.4.3.	<i>Baccharis linearis</i> (Ruiz et Pav) Pers .....	153
<b>5.5.</b>	<b>Descripción de la metodología</b> .....	<b>154</b>
5.5.1.	Recopilación y sistematización de información secundaria sobre técnicas de remediación de suelos .....	154
5.5.2.	Ensayo inicial: Determinación de número de ciclos necesarios para remediar un suelo, sin técnicas de mejoramiento .....	154
5.5.3.	Ensayos para la selección de estrategias de mejoramiento de la extracción de cobre .....	157
5.5.4.	Ensayo final: Evaluación del efecto combinado de las estrategias de mejoramiento y selección de especie más eficiente en la remoción de cobre,	178
5.5.5.	Determinación del número de ciclos necesarios para remediar a escala real un área de Los Maitenes, considerando las estrategias de mejoramiento de la extracción seleccionadas-Evaluación final de la hipótesis.....	184
5.5.6.	Selección de la especie más eficiente en la extracción de cobre, una vez aplicadas las estrategias de mejoramiento seleccionadas.....	184

5.5.7. Análisis de las implicancias técnicas de la fitoextracción de un área de suelos de Los Maitenes.....	185
<b>5.6. Bibliografía específica .....</b>	<b>186</b>
<b>CAPITULO VI: RESULTADOS .....</b>	<b>189</b>
<b>6.1. Problemas de funcionalidad metodológica.....</b>	<b>191</b>
6.1.1. Problemas técnicos de procedimiento .....	191
6.1.2. Problemas relacionados a las condiciones del entorno .....	191
<b>6.2. Selección de técnica de biorremediación a utilizar .....</b>	<b>192</b>
<b>6.3. Determinación de los valores objetivo de remediación en base a valores background de Cu disponible .....</b>	<b>192</b>
<b>6.4. Características físico-químicas de los suelos en los sitios de muestreo y ubicación de ensayos.....</b>	<b>192</b>
<b>6.5. Ensayo inicial: Número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una superficie de suelo contaminado en el área de estudio .....</b>	<b>195</b>
6.5.1. Supervivencia de la especies.....	195
6.5.2. Producción de biomasa de las especies .....	196
6.5.3. Concentración de cobre en la biomasa aérea de las especies.....	196
6.5.4. Extracción de cobre por especie, por ciclo .....	196
6.5.5. Extracción de cobre por unidad de superficie, para cada especie ...	197
6.5.6. Masa de cobre a remover por metro cuadrado para remediar los suelos en estudio .....	197
6.5.7. Número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una unidad de superficie.....	198
<b>6.6. Efecto de las estrategias de mejoramiento en la extracción de cobre en <i>Oenothera picensis</i> y <i>Baccharis linearis</i> .....</b>	<b>198</b>
6.6.1. Ensayo 1: Efecto de la aplicación de enmiendas agrícolas sobre la extracción de Cu en las especies estudiadas.....	198
6.6.2. Ensayo 2: Determinación del estado fenológico en que las especies estudiadas presentan la máxima concentración de Cu en su parte aérea.....	203
6.6.3. Ensayo 3: Efecto de la adición de quelante al suelo en la extracción de cobre en las especies estudiadas.....	207
6.6.4. Ensayo 4: Aumento y homogenización de la capacidad de extracción de Cu mediante selección fenotípica de individuos de <i>O. picensis</i> y <i>A. subfusiformis</i> .....	212
6.6.5. Selección, por especie, de las estrategias de mejoramiento de la extracción más eficientes .....	214
<b>6.7. Evaluación del efecto combinado de las estrategias de mejoramiento seleccionadas sobre la extracción de cobre en las diferentes especies en estudio.....</b>	<b>215</b>
6.7.1. Efecto de las enmiendas en los suelos dos meses después del fin del ensayo	215
6.7.2. Supervivencia .....	215
6.7.3. Producción de biomasa.....	216
6.7.4. Concentración de Cu en la biomasa aérea .....	217

6.7.5.	Extracción de Cu por plantas y por superficie/año .....	218
6.7.6.	Determinación de estrategias más eficientes sobre el aumento de la extracción, para cada especie .....	220
<b>6.8.</b>	<b>Determinación de número necesario de ciclos de cultivo, para remediar una superficie de suelo para cada especie .....</b>	<b>220</b>
6.8.1.	<i>O. Picensis</i> .....	220
6.8.2.	<i>B. linearis</i> .....	221
<b>6.9.</b>	<b>Determinación de especie más eficiente en la remoción de cobre ...</b>	<b>221</b>
<b>6.10.</b>	<b>Rechazo de la hipótesis de investigación .....</b>	<b>221</b>
CAPITULO VII: DISCUSIONES .....		223
<b>7.1.</b>	<b>Influencia de los problemas de funcionalidad metodológica sobre los resultados y conclusiones .....</b>	<b>225</b>
<b>7.2.</b>	<b>Características físico-químicas de los suelos del área de estudio ...</b>	<b>226</b>
7.2.1.	Concentración de Cu total .....	226
7.2.2.	pH.....	227
7.2.3.	Fracciones disponibles de Cu .....	227
7.2.4.	Macronutrientes y materia orgánica .....	228
<b>7.3.</b>	<b>Número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una superficie de suelo contaminado en el área de estudio, en base a la capacidad natural de extracción de las especies seleccionadas .....</b>	<b>228</b>
<b>7.4.</b>	<b>Efecto de las estrategias de mejoramiento en la extracción de cobre en <i>Oenothera picensis</i> y <i>Baccharis linearis</i> .....</b>	<b>229</b>
7.4.1.	Efecto de la aplicación de enmiendas agrícolas sobre la extracción de Cu en las especies estudiadas. ....	229
7.4.2.	Estado fenológico de máxima concentración de Cu en la biomasa aérea de las especies estudiadas .....	230
7.4.3.	Efecto de la adición de quelante al suelo, en la extracción de cobre en las especies estudiadas.....	231
7.4.4.	Aumento y homogenización de la capacidad de extracción de Cu mediante selección fenotípica de individuos de <i>O. picensis</i> .....	232
7.4.5.	Selección, por especie, de las estrategias de mejoramiento de la extracción más eficientes.....	233
<b>7.5.</b>	<b>Efecto combinado de las estrategias de mejoramiento seleccionadas sobre la extracción de cobre en las diferentes especies en estudio .....</b>	<b>233</b>
<b>7.6.</b>	<b>Estrategias más eficientes para el aumento de la extracción .....</b>	<b>235</b>
<b>7.7.</b>	<b>Número de ciclos de cultivo para remediar un suelo, en base a las estrategias más eficientes seleccionadas .....</b>	<b>235</b>
<b>7.8.</b>	<b>Especie más eficiente en la extracción de Cu .....</b>	<b>236</b>
<b>7.9.</b>	<b>Hipótesis de investigación .....</b>	<b>236</b>
<b>7.10.</b>	<b>Proyecciones y recomendaciones futuras .....</b>	<b>236</b>
<b>7.11.</b>	<b>Bibliografía específica .....</b>	<b>238</b>
CAPITULO VIII: CONCLUSIONES .....		241

<b>8.1. Conclusiones parciales</b> .....	243
<b>8.2. Conclusiones globales</b> .....	245
<b>CAPÍTULO XIX: BIBLIOGRAFÍA GENERAL</b> .....	247
<b>ANEXO I: CONTAMINACIÓN DE SUELOS POR COBRE</b> .....	263
1. Cobre en el suelo.....	265
1.1. Formas de cobre en el suelo .....	265
1.2. Contenido de cobre en el suelo .....	266
1.3. Biodisponibilidad del Cu y factores que influyen en ella .....	266
2. Cobre en la nutrición vegetal .....	269
2.1. Esencialidad e insuficiencia de cobre en las plantas.....	270
2.2. Contenidos de cobre en plantas normales .....	271
2.3. Absorción y movilidad de Cu en las plantas.....	271
3. Contaminación de suelos por cobre.....	272
3.1. Concepto y definición legal de suelo contaminado por cobre.....	272
3.2. Evolución hacia la incorporación de la biodisponibilidad en el concepto de suelo contaminado por metales.....	273
3.3. Causas de contaminación de suelos por cobre.....	273
3.4. Efectos de la contaminación por cobre .....	275
3.5. El peligro del exceso de cobre en el ecosistema .....	282
<b>ANEXO II: CONTAMINACIÓN POR COBRE PROVENIENTE DE LA MINERÍA EN SUELOS CHILENOS</b> .....	283
1. Minería del cobre en Chile .....	285
2. Relación minería-medio ambiente en Chile.....	288
3.-Caracterización de la contaminación de suelos chilenos por cobre proveniente de la minería.....	292
3.1. Relaves .....	292
3.2. Suelos .....	294
4. Efectos de la contaminación de suelos chilenos por cobre proveniente de la minería .....	295
4.1. Comunidades marinas .....	297
4.2. Organismos del suelo.....	298
4.3. Vegetación .....	298
4.4. Salud humana y animal.....	298
5. El daño histórico causado por la actividad minera en Chile .....	299
<b>ANEXO III: VARIOS</b> .....	301

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales familias y géneros de especies hiperacumuladoras de metales.....	22
Tabla 2. Concentración de Pb en distintas especies por aplicación de quelantes...34	
Tabla 3. Ventajas y desventajas de la fitoextracción v/s fitoestabilización.....41	
Tabla 4. Ventajas y desventajas de técnicas tradicionales v/s bio y fitorremediación .....	46
Tabla 5. Caracterización de las series de suelo presentes en el área de estudio..	106
Tabla 6. Tabla de valores background de metales, para las comunas de Puchuncaví y Quintero .....	110
Tabla 7. Formaciones vegetales en el área de estudio según clasificación de Ettiene & Prado (1982). .....	111
Tabla 8. Normas de calidad primaria y secundaria de aire establecida para SO <sub>2</sub> , pasadas y vigentes. ....	115
Tabla 9. Especificaciones para el cultivo y cosecha de especies <i>in-situ</i> .....	155
Tabla 10. Características químicas del compost aplicado .....	180
Tabla 11. Descriptivos de los valores background encontrados para Cu disponible .....	192
Tabla 12. Características físico-químicas de los suelos de la parcela experimental ubicada en el sitio A, propiedad de CODELCO, camino a la localidad de Los Maitenes. ....	194
Tabla 13. Características físico-químicas de los suelos de la parcela experimental ubicada en el sitio B, en una propiedad agrícola en la localidad de Los Maitenes. ....	194
Tabla 14. Características físico-químicas de los suelos del sitio C, área municipal, camino a Los Maitenes, donde se tomaron muestras de especies vegetales y se colectó suelo.....	194
Tabla 15. Sobrevivencia, producción de biomasa, extracción de cobre por ciclo de cultivo y por metro cuadrado, para <i>B. linearis</i> y <i>O. picensis</i> luego de dos ciclos de cultivo. ....	197
Tabla 16. Masa de cobre a remover por metro cuadrado de suelo del área de estudio, para alcanzar concentraciones objetivo .....	197
Tabla 17. Número de ciclos vegetales (años) necesarios para remediar los suelos del área de estudio, utilizando <i>B. linearis</i> y <i>O. picensis</i> , sin ningún mejoramiento. ....	198
Tabla 18. Efecto de la aplicación de enmiendas (cal y fertilizantes) sobre las características físico-química de los suelos de la parcela experimental. ....	199
Tabla 19. Síntesis de mejoramientos seleccionados para cada especie. ....	214
Tabla 20. Efecto de los tratamientos (compost y quelante) sobre las características	

químicas y físico-químicas de los suelos superficiales (0-15 cm) en el sitio de estudio, 10 meses después de la aplicación de los tratamientos. ....	215
Tabla 21. Efecto de los tratamientos sobre la biomasa aérea, concentración de Cu y extracción de Cu en <i>Oenothera picensis</i> . ....	216
Tabla 22. Efecto de los tratamientos sobre la biomasa aérea, concentración de Cu y extracción de Cu por individuo en <i>Baccharis linearis</i> . ....	216
Tabla 23. Comparación del número de ciclos necesarios para remediar una superficie de suelo con diferentes concentraciones iniciales de Cu, utilizando <i>O. picensis</i> sin mejoramiento v/s la adición de MGDA.....	221

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la problemática general del área de estudio .....	4
Figura 2. Ejemplo de menciones en prensa de la problemática de la contaminación existente en el área aledaña a la fundición CODELCO-Ventanas.....	5
Figura 3. Diagrama de la evolución de la investigación.....	8
Figura 4. Mecanismos de interacción metal-microorganismos .....	13
Figura 5. Mecanismos de detoxificación de metales pesados presentes en microorganismos. ....	14
Figura 6. Principios básicos en la eliminación/recuperación de metales por biomasa microbiana o productos derivados. ....	15
Figura 7. Bacillus antes de la acumulación de Cu y Co (arriba) y después de la acumulación (abajo).....	16
Figura 8. Esquema de los mecanismos de fitoestabilización de metales en una planta. ....	19
Figura 9. Esquema de la rizósfera de una planta y su relación espacial con el sistema vascular .....	19
Figura 10. Respuestas de las plantas tolerantes frente a la presencia de metales pesados en el suelo. ....	22
Figura 11. Cálculo simulado del número de cosechas requeridas para reducir a la mitad las concentraciones de metales en un suelo superficial (20 cm). ....	23
Figura 12. Esquema de los procesos biológicos implicados en la fitoextracción ....	25
Figura 13. Esquema de las vías apoplásticas y simplásticas en una planta .....	26
Figura 14. Estructura química de la fitoquelatina (izquierda) y de la histidina (derecha). ....	27
Figura 15. Esquema de la entrada del complejo metal-quelante a la planta.....	32
Figura 16. Representación esquemática de un proceso de fitoextracción asistida por quelantes. ....	33
Figura 17. Formula estructural del EDTA y EDDS.....	34
Figura 18. Formula estructural del MGDA- $\text{Na}_3$ .....	36
Figura 19. Proceso de selección en líneas puras. ....	37
Figura 20. Imagen de las cercanías de la fundición Severonikel en la península Kola (arriba) y montaje de experimentos de fitorremediación (abajo).....	68
Figura 21. Vista aérea de la balsa de decantación afectada en Aznalcóllar. Vista del avance de los lodos (abajo). ....	70
Figura 22. Parcelas experimentales.....	73
Figura 23. Resultados de extracción de uranio en las especies y tratamientos	

aplicados.....	73
Figura 24. Imagen del vertedero de uranio después del cierre de la mina (arriba) y luego de 15 años de recuperación (abajo). .....	74
Figura 25. Contaminación por Cd de los suelos agrícolas proveniente de las fundiciones, al fondo, en la provincia de Hunan, China .....	75
Figura 26. Arriba: Vivero ubicado en la localidad rural de Cuncumén, donde fueron cultivadas 11 especies para la reforestación del tranque Los Quillayes, comuna de Salamanca; Abajo: Vista panorámica de las 30 hectáreas de fitoestabilizado a un año de la plantación de sus primeras especies .....	77
Figura 27. Ubicación de las comunas de Puchuncaví y Quintero a nivel nacional y regional y ubicación de la Fundición y las estaciones meteorológicas de CODELCO Ventanas.....	90
Figura 28. Evolución de la población en la comuna de Puchuncaví, según tamaño de la localidad.....	91
Figura 29.- Ubicación de la comuna de Puchuncaví (flecha roja) en carta de ecorregiones de Chile basada en provincias climáticas de Köppen.....	93
Figura 30.- Variaciones anuales de temperatura estacional, entre los años 1993-junio 2014, en el área de estudio (no hay datos para el año 2011). .....	94
Figura 31. Variación de las precipitaciones estacionales y anuales en el período 1993-junio 2013, en el área de estudio.....	95
Figura 32. Variación estacional de la humedad relativa en el período 1993-2008, en el área de estudio (no hay datos para el año 2011). .....	95
Figura 33. Rosa de los vientos del área de estudio. ....	98
Figura 34. Elevación y curvas de nivel en las comunas de Puchuncaví y Quintero. 99	
Figura 35. Pendientes en el área aledaña a la Fundición CODELCO Ventanas, comunas de Puchuncaví y Quintero.....	100
Figura 36.- Esquema de subsistemas de uso de suelo en el borde costero Puchuncaví-Quintero.....	102
Figura 37. Plan regulador Intercomunal del sector costero de la región de Valparaíso. ....	103
Figura 38. Modificaciones al Plan Regulador Intercomunal reflejando el crecimiento del área industrial en el límite de las comunas de Puchuncaví y Quintero.....	104
Figura 39. Grandes grupos de suelos en Chile.....	105
Figura 40. Series de suelo en el área de influencia de la Fundición CODELCO Ventanas. Comunas de Puchuncaví y Quintero, región de Valparaíso (no se tiene información de la totalidad de la superficie de ambas comunas).....	107
Figura 41.- Capacidad de uso de suelo en el área aledaña a la Fundición CODELCO	



Ventanas, comunas de Puchuncaví y Quintero.....	109
Figura 42. Ubicación de las industrias en el borde costero Puchuncaví-Quintero actualizado. ....	112
Figura 43. Límites de la zona saturada por SO <sub>2</sub> y MP (D.S N° 346/93). ....	116
Figura 44.- Emisión de PM10 (a y b) y SO <sub>2</sub> (c y d) de la Fundación Ventanas hasta el año 2006, en relación a límite impuesto por el Plan de Descontaminación. ....	118
Figura 45.- Máximo Porcentaje de Norma Primaria de Calidad del Aire Registrado en la Red. ....	120
Figura 46. Participación de MP10 por fuentes emisoras en el Sector de Los Maitenes (arriba) y La Greda (abajo) en [ug/Nm <sup>3</sup> ] ....	121
Figura 47. Relación entre la concentración de arsénico y cobre en los suelos de Puchuncaví, y la distancia desde el clúster industrial Ventanas. ....	122
Figura 48. Gradiente de concentraciones de cobre total en las comunas de Puchuncaví y Quintero obtenidas mediante interpolación de los puntos de muestreo. ....	124
Figura 49. Gradientes de pH en el área de estudio. ....	125
Figura 50. Clasificación del territorio en base a la comparación con el valor background establecido para Cu. ....	126
Figura 51. Esquema de los microhábitats presentes en áreas naturales del área de estudio y variación de características edáficas y contaminación ....	127
Figura 52. Erosión en cárcavas en sectores descubiertos camino a la localidad de Los Maitenes. 1,5 km de la Fundación. ....	129
Figura 53. Flujograma de desarrollo de los objetivos específicos de la investigación. ....	142
Figura 54. Esquema de la propuesta de gestión ambiental. ....	144
Figura 55. Ubicación de las áreas de muestreo y experimentación. ....	148
Figura 56. Ubicación del ensayo <i>ex situ</i> en la comuna de Quillota, región de Valparaíso ....	148
Figura 57. <i>Oenothera picensis Phil.</i> ....	151
Figura 58. <i>Argemone subfusiformis Ownbey</i> . ....	152
Figura 59. <i>Baccharis linearis</i> (Ruiz et Pav) Pers ....	153
Figura 60. Ubicación de la parcela experimental y esquema de la distribución de las especies, y los bloques con los tratamientos. ....	159
Figura 61. Aplicación de cal en parcela experimental. ....	160
Figura 62. Prospección de especies. 3,4 y 7° muestreo. ....	165
Figura 63. Esquema del diseño experimental del ensayo con Trilon M. ....	167
Figura 64. Recolección de capas de las distintas estratas de suelo en sector de	

matorral de Los Maitenes, para ensayos de quelantes <i>ex situ</i> . .....	169
Figura 65. Esquema del montaje de la unidad experimental. ....	170
Figura 66. Columnas experimentales dispuestas al aire libre. ....	170
Figura 67. Diseño parcelas de selección fenotípica para el primer y segundo ciclo de cultivo.....	175
Figura 68. Encapsulamiento de las estructuras reproductivas de las flores de <i>O. picensis</i> para evitar la polinización cruzada, en Maitencillo. ....	175
Figura 69. Esquema de la parcela para la segunda etapa del ensayo en la que se cultivarían las semillas de los individuos seleccionados, en líneas “puras”.....	176
Figura 70. Esquema de la distribución de los tratamientos en la parcela experimental donde se evaluarán las estrategias de mejora de la fitoextracción seleccionadas. ....	179
Figura 71. Vista de la parcela experimental, después de la aplicación de compost en los cuadrantes correspondientes a los tratamientos compost y compost + quelante. ....	180
Figura 72. Propagación de <i>Baccharis linearis</i> mediante estacas, en cama fría bajo plástico, un mes antes del trasplante. ....	181
Figura 73. Comparación del desarrollo de <i>A. subfusiformis</i> al momento del trasplante (izquierda) vs el desarrollo luego de 6 meses de cultivo (derecha).....	195

## INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Modelo de gráfico de estado fenológico vs extracción de cobre por individuo. ....	166
Gráfico 2. Variación temporal de la solubilidad del cobre luego de la aplicación de 5 mmol/planta al suelo, a diferentes profundidades. ....	168
Gráfico 3. Supervivencia de las especies estudiadas luego del primer y segundo ciclo de cultivo. ....	200
Gráfico 4. Efecto de la materia orgánica sobre la producción de biomasa por superficie (g/m <sup>2</sup> ), en <i>O. picensis</i> . ....	201
Gráfico 5.- Efecto de la materia orgánica sobre la extracción de cobre por individuo en <i>O. picensis</i> . ....	202
Gráfico 6.-Relación entre materia orgánica y la extracción de cobre por metro cuadrado en <i>O. picensis</i> . ....	203
Gráfico 7.- Biomasa aérea en las especies herbáceas estudiadas, en distintos estados fenológicos. ....	204
Gráfico 8. Biomasa aérea en <i>B. linearis</i> según estado fenológico. ....	204
Gráfico 9. Concentración de Cu en la biomasa aérea de <i>O. picensis</i> y <i>A. subfusiformis</i> en relación a su estado fenológico. ....	205
Gráfico 10. Concentración de cobre foliar en <i>B. linearis</i> , en distintos estados fenológicos. ....	206
Gráfico 11. Extracción efectiva de cobre por <i>O. picensis</i> y <i>A. subfusiformis</i> , en distintos estados fenológicos. ....	206
Gráfico 12. Extracción efectiva de cobre por <i>B. linearis</i> , en distintos estados fenológicos. ....	207
Gráfico 13. Efecto de la aplicación de MGDA sobre la producción de biomasa en <i>O. picensis</i> . ....	208
Gráfico 14. Efecto de la aplicación de MGDA sobre la concentración de Cu en la biomasa aérea de <i>O. picensis</i> . ....	208
Gráfico 15. Efecto de la aplicación de MGDA sobre la extracción total de Cu por <i>O. picensis</i> . ....	209
Gráfico 16. Efecto de la altura de la columna y el tratamiento, sobre el Cu soluble en el lixiviado. ....	210
Gráfico 17. Efecto de la aplicación de MGDA en el cobre intercambiable en cada estrata de suelo. ....	211
Gráfico 18. Efecto de la dosis de MGDA sobre la concentración de Cu soluble en	

cada estrata. ....	211
Gráfico 19. Supervivencia de las distintas poblaciones de <i>O. picensis</i> en la primera etapa del proceso de selección fenotípica. ....	212
Gráfico 20. Variación de la extracción de Cu por individuo, entre diferentes localidades de origen de las semillas .....	213
Gráfico 21. Variación de la extracción de cobre entre los individuos provenientes de semilla de cada localidad. ....	213
Gráfico 22. Efecto del porcentaje de materia orgánica del suelo sobre la producción de biomasa de <i>O. picensis</i> . ....	217
Gráfico 23. Efecto de la concentración de Cu intercambiable en el suelo superficial sobre la concentración de Cu en la biomasa aérea de <i>O. picensis</i> . ....	218
Gráfico 24. Efecto de la concentración de Cu total en el suelo a los 15-30 cm sobre la concentración de Cu en la biomasa aérea de <i>B. linearis</i> . ....	218
Gráfico 25. Efecto de la Conc de Cu total en la estrata 15-30 cm del suelo sobre la extracción de Cu por <i>B. linearis</i> (luego de dos años de cultivo). ....	219



## RESUMEN

En esta tesis, se buscó desarrollar una metodología para la remediación a escala real de los suelos afectados históricamente por las emisiones de la Fundición de cobre CODELCO Ventanas (ubicada entre las comunas de Puchuncaví y Quintero, región de Valparaíso). Las emisiones históricas generaron altas concentraciones de Cu y en menor medida de otros metales, en los suelos de la zona aledaña a la Fundición. Estas condiciones representan actualmente un riesgo a la salud de la población y a la biota

Para lograr el objetivo de remediar los suelos, se seleccionó la técnica de fitoextracción, por ser ambientalmente amigable y ser una técnica de bajo costo. La técnica se basa en la extracción de metales por parte de plantas acumuladoras y su posterior cosecha, lo que, después de una cantidad variable de ciclos de cultivo, permite disminuir las concentraciones de metal a un nivel target (usualmente un valor que no cause riesgo a la salud o biota o un valor cercano al background). Se estableció que un período de una década es aceptable para un proceso de remediación a gran escala.

Como base para desarrollar la metodología de fitoextracción se seleccionaron tres especies nativas identificadas anteriormente en el área: *Baccharis linearis*, *Argemone subfusiformis* y *Oenothera picensis*. Las altas concentraciones de Cu halladas en la biomasa aérea de estas especies en un muestreo exploratorio (promedio 391 y 314 y 600 mg/kg, respectivamente), su adaptación a la zona, y su alta producción de biomasa las definieron como especies con potencial para la fitoextracción. Sin embargo, ensayos iniciales determinaron que se requieren estrategias que mejoren su potencial extractor pues, en condiciones naturales, la proyección del número de ciclos de cultivo que se requeriría para remediar un suelo contaminado por Cu es muy elevado (cientos a miles de años), lo que lo hace inviable en condiciones reales.

Para mejorar la capacidad extractora de cobre de las especies seleccionadas se probaron 4 estrategias: la aplicación de enmiendas agrícolas; la definición del momento ideal de cosecha; el mejoramiento genético mediante selección fenotípica y la aplicación de un quelante biodegradable. Las estrategias se probaron en forma separada y luego se seleccionaron, para cada especie, aquellas estrategias que arrojaban resultados positivos sobre la extracción, probándose luego en conjunto en un ensayo final. En el ensayo final se seleccionaron la o las estrategias combinadas más eficientes para cada especie. En base a la mejora de la extracción se calculó nuevamente, para cada especie el número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una superficie de suelo contaminado una vez aplicadas las estrategias de mejoramiento. Si el número de ciclos necesarios para remediar un suelo hubiese sido menor a 10 años en duración en alguna de las especies, se consideraría a la técnica como apta para ser aplicable a escala real y se desarrollaría una metodología de fitoextracción, considerando las implicancias técnicas y económicas. Los ensayos se realizaron entre el año 2008 y 2011.

Los resultados obtenidos descartaron en un inicio a la especie *Argemone subfusiformis*, debido a su dificultad de propagación y a una baja tasa de supervivencia en los primeros.

En cuanto a cada estrategia de mejoramiento:

- El mejoramiento genético (probado en *O. picensis* ya que *A. subfusiformis* se descartó y *B. linearis* es una especie dioica) no fue exitoso ya que luego de la

autopolinización, las semillas obtenidas sufrieron de decaimiento endogámico muriendo los individuos al poco tiempo de crecimiento.

- En cuanto a la determinación del momento ideal de cosecha, para *O. picensis* se determinó que el estado fenológico ideal de cosecha era el período reproductivo (floración) ya que en este momento se concentra la mayor cantidad de Cu en la biomasa aérea. Para *B. linearis* no se detectó un estado fenológico en que la extracción de Cu fuese significativamente mayor a otro.
- En cuanto a la adición de un quelante biodegradable, probada en condiciones controladas para *O. Picensis*, la adición de MGDA (Ácido Metil Glicin Diacético) tuvo un efecto positivo significativo en la extracción. Una dosis de 6-10 mmol/planta aumento en 5 veces la extracción, comprobándose además que no causaba lixiviación de metales o nutrientes a capas más profundas de suelo. Si bien en *B. linearis* no se probó la adición de quelantes en condiciones controladas debido a restricciones operativas, se decidió probar para esta especie esta estrategia de mejoramiento en el ensayo final.
- En cuanto a las enmiendas agrícolas, se determinó que la aplicación de materia orgánica (7%) podría aumentar significativamente la extracción en *O. Picensis*. Si bien en *B. linearis* no se obtuvieron resultados claros debido a pérdida de individuos (ramoneo), se decidió probar esta estrategia en el ensayo final.

En el ensayo final, se probó la adición de 6 mmol/planta de MGDA en conjunto con la adición de compost hasta llegar a un 7% de materia orgánica. Los resultados y su análisis posterior arrojaron que la aplicación de quelante aumentó significativamente el Cu intercambiable en el suelo y por lo tanto generó una extracción 6,6 veces la del control. Por otro lado la aplicación de materia orgánica sola y en conjunto con quelante disminuyó significativamente la disponibilidad de Cu en relación al control, y por lo tanto disminuyó la extracción. Esto se atribuye a que el compost adquirido tenía un pH levemente alcalino (circunstancia no prevista ya que la muestra inicial testeada tenía pH neutro).

Para *B. linearis* los tratamientos no tuvieron efectos, dependiendo la extracción solo de la concentración de Cu total entre 15-30 cm de profundidad (profundidad donde se concentran las raíces de la planta).

Considerando al tratamiento de quelantes como el más exitoso, se calculó nuevamente el número de ciclos necesarios para remediar un suelo contaminado por Cu, utilizando los valores máximos, mínimos y promedio obtenidos en este tratamiento. Si bien los resultados arrojaron una disminución de un 15% del número de ciclos necesarios en relación a la condición sin mejoras; aún el número de ciclos ascendía al orden de siglos, lo que la hace inviable en condiciones reales. Para *B. linearis*, dado que los mejoramientos no tuvieron efecto, no se calculó nuevamente el número de ciclos.

Se concluyó entonces que la hipótesis de investigación fue rechazada ya que no se logró disminuir el número de ciclos necesarios para remediar un suelo contaminado por Cu, a un valor menor a 10 ciclos, para ninguna de las especies, utilizando los mejoramientos evaluados.

El análisis en profundidad de los resultados permitió proyectar que las dificultades metodológicas probablemente afectaron significativamente los resultados. El aseguramiento del uso de un compost neutro habría evitado la baja del Cu intercambiable, mejorando con ello los resultados del ensayo final. Por otro lado, los ensayos controlados con quelantes evidenciaron que la planta no se veía afectada por la toxicidad del quelante ni por la toxicidad metálica, y que la lixiviación hacia capas profundas era muy reducida. Por ende es probable

que se pudiesen aplicar mayores dosis de quelante, mejorando con ellos los resultados de la extracción.

El análisis también sugirió que factores externos como la escasez de precipitaciones influyeron significativamente sobre los resultados. El año 2008, en que se realizaron los primeros ensayos (cultivo en condiciones naturales y ensayo de aplicación de enmiendas) las precipitaciones fueron aproximadamente el doble que en los siguientes años de experimentación, afectando la sobrevivencia y desarrollo, principalmente de *O. affinis* por ser especie herbácea. Se presume que ante un escenario de lluvias normales los resultados de esta tesis podrían haber mejorado significativamente al menos para esta especie. La escasez hídrica aumentó también el ataque de especies roedoras, que consumieron los individuos de *B. linearis* en el primer ensayo, aunque luego de esto se tomaron precauciones para evitar este problema.

Si bien no se logró el objetivo, el desarrollo de la tesis permitió conocer las limitantes que presentaría un proceso de fitoextracción a escala real en el ecosistema propio del área de estudio, más allá de las limitantes propias de la técnica. La aplicación de riego y la protección contra el ataque de roedores deben ser consideradas al momento de aplicar la técnica a gran escala en esta área si se desean obtener resultados eficientes. Asimismo lo es el uso de materiales (enmiendas o incluso el agua de riego) que no neutralicen la acidez.

Como proyecciones para nuevas investigaciones, se sugiere prospectar nuevas especies acumuladoras, pero esta vez en vetas de mineral, ya que en estos sitios las especies han estado expuestas a la presión de selección por miles de años en comparación a las décadas a las que han estado expuestas en sitios contaminados antrópicamente. También se sugiere el probar cultivos energéticos en reemplazo de especies acumuladoras (por ejemplo, la tuna, *Opuntia ficus-indica* Mill., que es una especie que aún crece en el área de estudio). Además existen otras estrategias de mejoramientos que es posible probar como la adición de micorrizas, que ha tenido efectos positivos según otros autores nacionales.

Considerando lo anterior, y el hecho de que la fitoextracción, hasta la fecha de realización de esta tesis, no había sido investigada en condiciones reales, esta tesis se considera un aporte inicial relevante en la búsqueda de estrategias eficientes para la descontaminación de sitios contaminados por metales en Chile y más aún para el área de estudio de Puchuncaví y Quintero.



## ABSTRACT

The aim of this thesis is to develop a methodology for full-scale remediation of soils that are historically affected by emissions from CODELCO's Ventanas copper smelter. The plant is located between the communities of Puchuncaví and Quintero, Valparaíso Region. Historical emissions inserted high concentrations of Cu, and to lesser extent other metals, into the soils around the smelter. Consequently, the surrounding population and biota are exposed to high health risks.

To achieve the objective of remedying soil, the phytoextraction technique was selected for its environmental friendliness and cost efficiency. Roughly, the technique extracts metals using accumulating plants and their subsequent harvest. This way, after a variable number of growing cycles, concentrations of metal could fall below a specific threshold that does not involve risks to health or biota, or that is close to a background value. It was established that a period of a decade is acceptable for such a large-scale remediation process.

Three species, native to the study area, were deemed fit to serve in the endeavor: *Baccharis linearis*, *Argemone subfusiformis* and *Oenothera picensis*. High concentrations of Cu (average 391, 314 and 600 mg/kg, respectively) discovered in the aerial biomass of these species in an exploratory sampling, their adaptation to the area and high biomass production, strengthen these species' high potential for phytoextraction. However, initial tests determined the need to follow certain strategies to improve their extracting potential, because under natural conditions the projected number of growing cycles required to remedy soil contaminated by Cu stretches into hundreds of years, rendering the process unviable under real-world conditions.

The four strategies to improve the copper extracting capacity of the selected species are: i) application of agricultural amendments; ii) definition of ideal harvest time; iii) genetic improvement by phenotypic selection; and iv) application of a biodegradable chelator. The strategies were tested separately and then selected according to species. Strategies that yielded positive results regarding extraction were tested together in a final test, which produced the most efficient or combined strategies for each species. Based on extraction improvement, for each species the number of growing cycles necessary to remedy a contaminated surface culture was calculated again after soil improvement strategies were implemented. If the number of required cycles turned out less than 10 years for any of the species, the technique was considered suitable to be applied at real-world scale, and a phytoextraction methodology would be developed, considering technical and economic implications. The trials were carried out between 2008 and 2011.

The results obtained initially discarded the species *Argemone subfusiformis*, due to its difficulty of propagation and low survival rate in the firsts years of experimentation of this thesis.

Regarding each improvement strategy:

- Genetic improvement (tested on *O. picensis* since *A. subfusiformis* was discarded and *B. linearis* is a dioecious species) was not successful, because after self-pollination, the seeds obtained suffered endogamic decay and the individuals were dying after a brief period of growth.
- Regarding the determination of harvest time, it emerged that the ideal phenological state of harvest for *O. picensis* is the reproductive period (bloom), since this moment concentrates the greatest amount of Cu in the aerial biomass. For *B. linearis*, no phenological state in which the removal of Cu significantly

- increased compared to other states arose.
- Concerning the adding of biodegradable chelating, tested in controlled conditions for *O. Picensis*, the addition of MGDA (Methyl Glycine Diacetic Acid) had a significant positive effect on extraction. A dose of 6-10 mmol / plant increased extraction five-fold, after assurance that no leaching of metals or nutrients into deeper soil layers occurred. Even though in *B. linearis* the addition of chelating agents under controlled conditions could not obtain due to operational constraints, it was decided to try this improvement strategy in the final trial nonetheless.
  - Regarding agricultural amendments, it was determined that the application of organic matter (7%) could significantly increase extraction in *O. Picensis*. Although in *B. linearis* clear results did not emerge due to loss of individuals, it was decided to test this strategy nonetheless in the final trial.

In that trial, the addition of 6 mmol/plant of MGDA was tested in conjunction with adding compost until 7% of organic matter was reached. Results and their further analysis revealed that the application of chelator significantly increased the exchangeable Cu in the soil, and therefore generated an extraction 6.6 times higher than that in the controlled conditions. On the other hand, the application of organic matter alone, and in conjunction with chelating, significantly decreased Cu availability in relation to the controlled conditions, and therefore decreased the extraction. This may derive from the compost's slightly alkaline pH-value, which was not envisaged since the initial sample tested had neutral pH.

For *B. linearis* treatments had no effect. Extraction depended solely on the total Cu concentration at depths of 15-30 cm, where the roots of the plant concentrate.

Considering the treatment of chelating as more successful, the number of cycles needed to remedy Cu-contaminated soil was calculated again, using the maximum, minimum and average values obtained in the treatment. Even though the results showed a decrease of 15% in the number of necessary cycles in relation to the condition without improvements, it still reached the order of centuries, making it unfeasible under real-world conditions. For *B. linearis*, given the improvements had no effect, the number of cycles had not been calculated again.

Consequently, the research hypothesis was rejected in conclusion, since decreasing the number of cycles necessary to remedy a soil contaminated by Cu to a value lower than 10 cycles was not achieved for any of the species, using the improvements evaluated.

The in-depth analysis of the results allowed projecting that the methodological difficulties probably significantly affected the results. Ensuring the use of neutral compost could have prevented lowering interchangeable Cu, thus also improving the final test results. On the other hand, controlled chelating trials demonstrated that neither the toxicity of the chelation nor the metal affected the plant, and that leaching into deep layers was very low. Thus, it is likely that higher doses of chelation could improve extraction results.

Analysis also suggested that external factors such as precipitation scarcity significantly influenced the results. When in 2008 the first trials (in natural conditions and testing the application of amendments) were conducted, precipitation reached approximately double that of subsequent years of experimentation, affecting the survival and development mainly of *O. affines* for

it being an herbaceous species. It is presumed that in a scenario of normal rainfall the results of this thesis could have significantly improved, at least for the aforementioned species. Water scarcity also increased attacks of rodent species that consumed the *B. linearis* individuals in the first trial, although precautions taken after the first cycle solved this problem for later trials.

While the objective was not achieved, the development of the thesis allowed determining the technical constraints that a process of phytoextraction would present at real scale in the ecosystem of the study area. To obtain efficient results, the application of irrigation and protection against rodent attacks must take precedence when applying the technique on a large scale in this area, as should the use of materials (amendments or even irrigation water) that do not neutralize acidity.

As projections for new research, it is suggested to prospect new accumulating species, but in veins of ore. In such areas, species have been exposed to the pressure of selection during thousands of years in comparison to only decades at anthropically contaminated sites. It is also suggested to test energy crops instead of accumulating species (for example, prickly pear, *Opuntia ficus-indica* Mill., which still grows in the study area). Additionally, more potential improvement strategies exist; for example the addition of mycorrhiza that has had positive effects according to other Chilean researchers.

Considering the above, and the fact that phytoextraction -as of thesis completion -had not been investigated in real-world conditions, this thesis makes an important initial contribution in the pursuit of efficient decontamination strategies of sites in Chile, and specifically for the area of Puchuncaví and Quintero.

## **INTRODUCCIÓN**



La minería del cobre es la actividad económica más importante en Chile (16,2% del PIB, según SONAMI, 2013), lo que se traduce en la existencia en el territorio de un gran número de minas y plantas de fundición del mineral. Las fundiciones emiten contaminantes a la atmósfera, principalmente cobre, acompañado de arsénico, plomo, cadmio, entre otros elementos, así como anhídrido sulfuroso. Estos contaminantes generan impactos negativos severos y críticos especialmente en el área que rodea a la fuente emisora. Lo anterior, involucra importantes pérdidas económicas en áreas agrícolas, además de riesgos sobre la salud humana y la biota, debido a la alta toxicidad que los metales producen en las plantas, animales y seres humanos y a la alta persistencia de dichos elementos en el suelo, que permite su paso a la cadena trófica (por ejemplo, Kabata-Pendias, 1995; Spurgeon, 1999; Hernandez & Pastor, 2008).

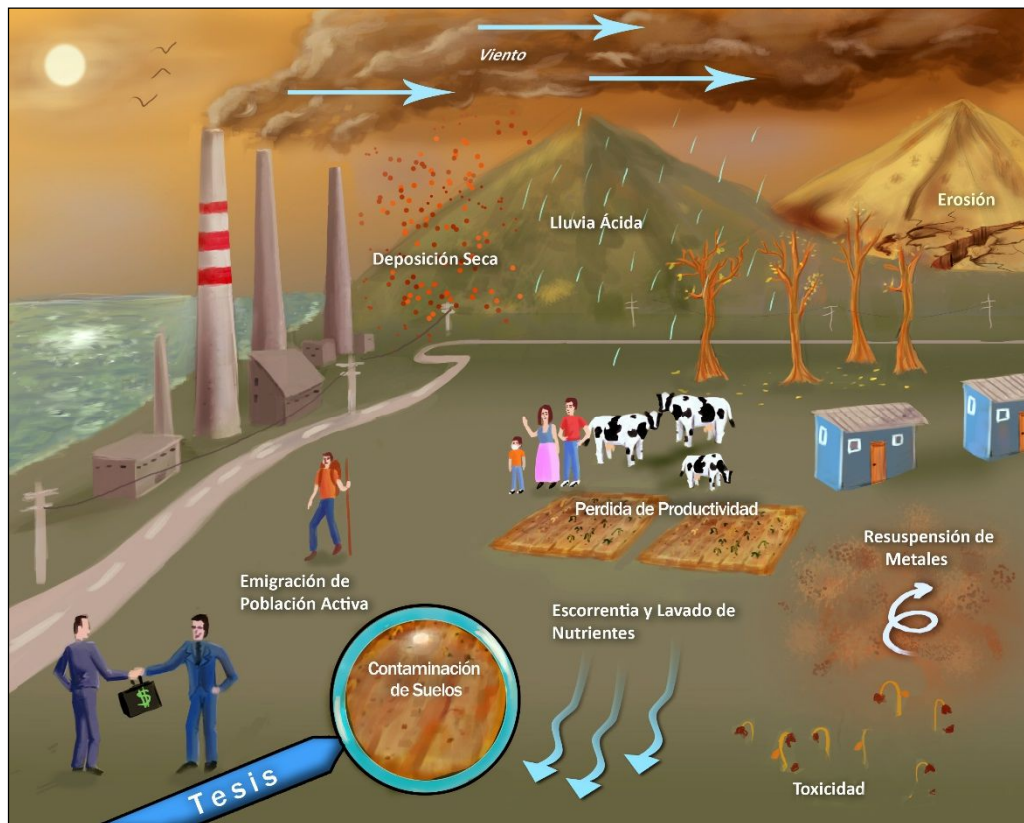
La zona costera de las comunas de Puchuncaví y Quintero, en la región de Valparaíso, es un claro ejemplo de la situación descrita. El rápido progreso de la actividad minera en los años 60 llevó a la necesidad de instalar una Fundición de cobre en la zona central. Decisiones políticas llevaron al establecimiento de la Fundición ENAMI Ventanas, actualmente propiedad de la Corporación Nacional del Cobre (CODELCO), en el sector limítrofe entre ambas comunas (Folchi, 2006).

Previo al establecimiento de normas ambientales de calidad de aire (MINSEGPRES, 1998; 2003), la fundición emitió descontroladamente, por más de 40 años anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>) y material particulado (MP) rico en metales, principalmente en cobre. Producto de estas emisiones, la calidad del aire en la zona aledaña a la fundición estuvo por años en niveles peligrosos para la salud humana. Simultáneamente, producto de los vientos, los contaminantes se dispersaron y se fueron depositando, como deposición seca o como lluvia ácida en los suelos de la zona aledaña a la fundición (Bruno, 1992), tal como aparece en la Figura 1.

Investigaciones exploratorias realizadas en la zona han evidenciado que en sectores distantes 2-8 km de la Fundición las concentraciones de Cu total están en un rango de 255 a 3718 mg/kg (De Gregori *et al.*, 2003, Ginocchio *et al.*, 2004). También existe alta presencia de otros metales (As, Pb, Zn entre otros), en concentraciones menores pero siempre proporcionales a la concentración de Cu. Los estudios exploratorios mencionados también señalan que el pH de los suelos es ácido en las cercanías de la fundición, estando en un rango de 4,7-5,6 (medianamente a fuertemente ácido). Este bajo pH provoca que las formas biodisponibles de los metales sean altas en el suelo, lo que significa un nivel aún mayor de toxicidad para los organismos vivos (González & Berqvist, 1986). Estudios posteriores más detallados permitieron estimar que el alcance de la contaminación cúprica y la alta acidez alcanzan hasta 25 kilómetros en dirección oeste de la fundición (zona hacia donde predominan los vientos), sobrepasando incluso los límites administrativos comunales (González *et al.*, 2014).

La alta toxicidad de los suelos provocó la desaparición de los cultivos y con

ello la ganadería tradicional de la zona, la disminución de la diversidad natural y la cobertura vegetal, acelerándose el desarrollo de graves procesos erosivos y de pérdida de nutrientes. La pérdida de la agricultura y el deterioro de los ecosistemas tuvieron como consecuencia una fuerte migración poblacional que empeoró más ya afectada economía local (Alfaro, 1988; Ginocchio, 2000). Por otro lado, aunque no se han publicado estudios relativos a la salud humana en la zona, se conocen los potenciales efectos tóxicos que el contacto con suelos contaminados pueden tener para la salud humana (vía dermal o ingesta) (Ej.: Gaetke & Chow, 2003; Pizarro et al., 1999).



**Figura 1. Esquema de la problemática general del área de estudio**

Fuente: elaboración propia

Luego de años de debate público y protestas comunitarias, el establecimiento de normativa ambiental a partir del año 92 (por ej., Ministerio de Minería, 1992) logró disminuir las niveles de contaminantes en el aire a niveles aptos para la salud; sin embargo, los contaminantes acumulados en el suelo continúan latentes en esta matriz hasta el día de hoy, pasando a constituir un Pasivo Ambiental Minero (PAM)<sup>1</sup> que impide la recuperación de los ecosistemas y que aún amenaza la salud de la población por el contacto con el suelo y por el paso de los contaminantes a la cadena trófica a través de los escasos cultivos de autoconsumo o de forraje que aún persisten en la zona.

La preocupación de la población y autoridades por los efectos de este Pasivo Ambiental sobre la salud de la población, así como por el constante aumento del número de industrias contaminantes en el sector (principalmente productoras de

<sup>1</sup> Daño ambiental causado en el pasado por la minería, y que no ha sido subsanado actualmente

SO<sub>2</sub><sup>2</sup>), es actualmente tema de debates y polémicas mediatizadas en televisión y prensa escrita (Figura 2). Uno de los eventos relevante ocurrió durante el año 2011, en el que hubo un importante evento de fallo de los filtros de contaminación de la Fundición, lo que provocó la intoxicación de estudiantes y residentes del área más cercana a la chimenea. En base a este suceso se generó un intenso debate público sobre las responsabilidades empresariales en las enfermedades que afectan a la población, los planes de instalar más industrias contaminantes en el área, la debilidad de la normativa de emisiones atmosféricas e incluso el posible paro del funcionamiento de la Fundición (lo que finalmente no se llevó a cabo).



Figura 2. Ejemplo de menciones en prensa de la problemática de la contaminación existente en el área aledaña a la fundición CODELCO-Ventanas

Fuente: recopilación de diarios El Mercurio de Valparaíso y La Tercera, año 2010.

Como se puede deducir, la complejidad del problema involucra a los ámbitos ambiental, económico y social. Ésta investigación se fundamenta en el estudio del ámbito ambiental y específicamente en el estudio de la deteriorada condición actual del suelo causada por las emisiones históricas de la Fundición CODELCO-Ventanas, condición que afecta directa o indirectamente a los elementos bióticos del ecosistema, incluida la especie humana.

<sup>2</sup> Que ponen en duda que se pueda seguir cumpliendo la normativa de calidad ambiental para aire



Si bien hasta la fecha no existe legislación acerca de la remediación de Pasivos Ambientales Mineros en Chile, progresivamente ha aumentado la preocupación en las autoridades y empresas mineras chilenas la inquietud para darle en relación a la problemática (Ministerio de Medio Ambiente de Chile, 2013). Esta inquietud surge por varios motivos: la nueva conciencia ambiental que ha surgido en las distintas esferas de opinión del país, las exigencias ambientales en el mercado internacional del cobre que ven con malos ojos la existencia de contaminación acumulada sin remediación y, por otro lado, la dinámica de la normativa ambiental en el país, que hace pensar que a corto plazo se pueden generar normativas de calidad de suelo y/o de remediación de pasivos ambientales, lo que obligaría a las empresas mineras a hacerse cargo, al menos en parte, de los pasivos.

La experiencia en temáticas de remediación de suelos en el país es limitada y principalmente se ha desarrollado a nivel de investigación básica (Bech et al, 2002; Aros, 2007; Muená, 2006; Tapia et al., 2013); por esto, se hace necesario desarrollar la investigación aplicada orientada a identificar alternativas tecnológicas de remediación de suelos contaminados por metales, que sean viables económica, política y ambientalmente, según las condiciones locales.

La información disponible a nivel internacional indica que los métodos tradicionales de remediación para suelos afectados por metales son eminentemente físico-químicos. Entre estos se cuentan la vitrificación, la electrocinética, el lavado de suelos, la separación física, etc. Estos métodos son muy costosos y además, alteran las propiedades naturales de los suelos, restringiendo sus posibilidades de uso posterior; sin embargo, tienen la bondad de solucionar el problema en corto tiempo y además, de tener una eficacia totalmente probada (Vara & De Oliveira, 2003; Peng et al., 2013). Debido a las desventajas de estos métodos se han buscado tecnologías más baratas, ambientalmente más adecuadas y que permitan mayores opciones de uso posterior de los suelos. En este contexto, en las últimas dos décadas han surgido con fuerza nuevas tecnologías que se agrupan bajo el nombre de biorremediación, cuya característica esencial es la utilización de organismos vivos para degradar, transformar o extraer contaminantes del suelo. Las técnicas de biorremediación son poco invasivas, permitiendo luego cualquier tipo de uso del suelo, además de ser más económicas comparadas con las técnicas tradicionales (Anderson & Coats, 1994; Hee et al., 2011).

Aunque son varias las tecnologías incluidas en el término biorremediación, la técnica más factible para aplicar en suelos contaminados por metales es la fitorremediación. Ésta se define como un conjunto de técnicas que hace uso de especies vegetales para remover o dejar en formas inocuas contaminantes del suelo, agua o sustratos (Hazrat et al., 2013). Las técnicas de fitorremediación útiles para suelos contaminados por metales son la fitoestabilización y la fitoextracción.

La fitoestabilización utiliza plantas tolerantes para limitar la movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes en el suelo, gracias a la adsorción y/o absorción de los contaminantes en las raíces, inmovilizándolos así en la interface raíz-suelo. Esta técnica permite además prevenir la lixiviación de los contaminantes y la erosión superficial. Al contrario, en la fitoextracción se utilizan plantas para remover definitivamente los elementos inorgánicos del suelo; principalmente se utilizan plantas acumuladoras o hiperacumuladoras<sup>3</sup> de metales, que absorben los contaminantes de interés desde el suelo y los translocan a sus tejidos aéreos, donde se concentran en formas inocuas para aquellos. Los tejidos aéreos son luego cosechados e incinerados en algunos casos, produciendo una ceniza rica en

---

<sup>3</sup> Aquellas capaces de acumular sobre 1000 ppm de Cu en su biomasa aérea

elementos contaminantes, que puede ser luego aislada como un desecho peligroso (Barceló & Poschenrieder, 2003; Gupta, 2012).

La fitoestabilización tiene la ventaja de ser rápida (tarda solo meses) y no requerir del retiro y disposición de la biomasa contaminada; su principal desventaja es que la contaminación permanece en el suelo, por lo que hay que monitorear constantemente el sitio para asegurarse de que los contaminantes permanezcan estabilizados. Por otro lado la fitoestabilización no permite usos alternativos del suelo, ya que la superficie debe mantenerse ocupada con las plantas tolerantes.

La fitoextracción tiene como principal ventaja la remoción definitiva de los contaminantes, lo que evita monitoreos posteriores del suelo y además permite usos posteriores de este. Su principal desventaja es el largo tiempo requerido para remediar los suelos, que, dependiendo del grado de contaminación y la planta utilizada, puede estar en un rango de 5 a más de 100 años (Koopmans et al., 2007; Lasat, 2000a; Van Nevel et al., 2007).

En consecuencia, para la remediación de suelos agrícolas contaminados por elementos inorgánicos, como el cobre, tal como es el caso del valle de Puchuncaví y Quintero, la fitoextracción se vislumbra como la alternativa más adecuada, ya que es una técnica de remediación económica, no altera las propiedades del suelo y permitiría volver a utilizar el suelo en otras actividades.

Para obtener una metodología de remediación eficiente, se deben considerar los factores críticos para su éxito, con el fin de optimizarlos al máximo y obtener mejores resultados. Un factor clave para lograr la efectividad de un proceso de fitoextracción de metales es el uso de especies vegetales apropiadas, las cuales deben de tolerar, incorporar y translocar los contaminantes que se desean remover, en cantidades superiores a las de una planta normal, idealmente a nivel de hiperacumulación (definido anteriormente). Las plantas también deben producir una gran cantidad de biomasa, con el fin de extraer la mayor cantidad posible de contaminante. Por otro lado, para asegurar el buen desarrollo y productividad vegetal, estas especies deben estar adaptadas a las condiciones edafo-climáticas del sitio que se desea remediar, siendo ideal trabajar con especies características y/o nativas de la zona contaminada (Lasat, 2000; Usman, 2012).

En el caso del área circundante a la Fundición Ventanas, investigaciones anteriores revelaron que, dentro de la escasa diversidad remanente en el lugar, existen especies, que si bien no son hiperacumuladoras, son capaces de acumular cobre en grandes cantidades. Estas especies son: *Oenothera picensis* (614 mg/kg), *Baccharis linearis* (314 mg/kg) y *Argemone subfusiformis* (391 mg/kg). Estas especies producen además grandes cantidades de biomasa, lo que las hace candidatas para un proceso de fitoextracción (González et al., 2008). Sin embargo, ensayos preliminares indican que se podrían requerir hasta más de 40 años para lograr remediar un suelo contaminado utilizando estas especies. Este largo tiempo de espera constituye el factor limitante de la técnica ya que la hace poco atractiva para aplicarla a gran escala en proyectos de descontaminación.

A nivel internacional existen estrategias de mejoramiento de la fitoextracción, que permiten disminuir el tiempo necesario de remediación para la obtención de resultados aceptables. Entre las estrategias de mejoramiento más utilizadas se cuentan el mejoramiento genético, la aplicación de manejos agronómicos y la adición de quelantes, entre otros. Sin embargo, los resultados de su aplicación varían dependiendo de la especie utilizada, las condiciones climáticas y las características del suelo a tratar, por lo que los resultados no son replicables, debiendo evaluarse

caso a caso (Cunningham & Ow, 1996; Chaney et al., 2000; Wu et al., 2004; Bhargava et al, 2012). Estas estrategias podrían evaluarse para el caso particular de las especies identificadas en los suelos contaminados de Puchuncaví y Quintero. Si mediante alguna estrategia se lograra reducir el tiempo necesario para remediar un suelo contaminado mediante fitoextracción, a un período prudente técnica, económica y socialmente, por ejemplo, un lapso de 10 años (Vassilev et al., 2004; Van Nevel et al, 2007), entonces se podría proponer esta técnica como un método de descontaminación de suelos factible de ser implementado en grandes superficie de terreno. La aplicación exitosa de una metodología de fitorremediación de suelos en el área afectada por la Fundición Codelco Ventanas, permitiría recuperar una gran extensión de terreno, mejorando la calidad de vida de los habitantes y permitiendo recuperar los ecosistemas y el paisaje. La técnica mejorada se podría aplicar eventualmente, con ajustes, a otros suelos contaminados por los mismos elementos, a lo largo del país.

En base a lo anterior es posible estructurar la investigación de tesis, respondiendo a las preguntas básicas que la argumentan, ¿Por qué investigar?, ¿para qué realizar la investigación?, ¿Cómo abordar la investigación? y ¿Quiénes realizarán la investigación?, tal como se observa en la Figura 3.

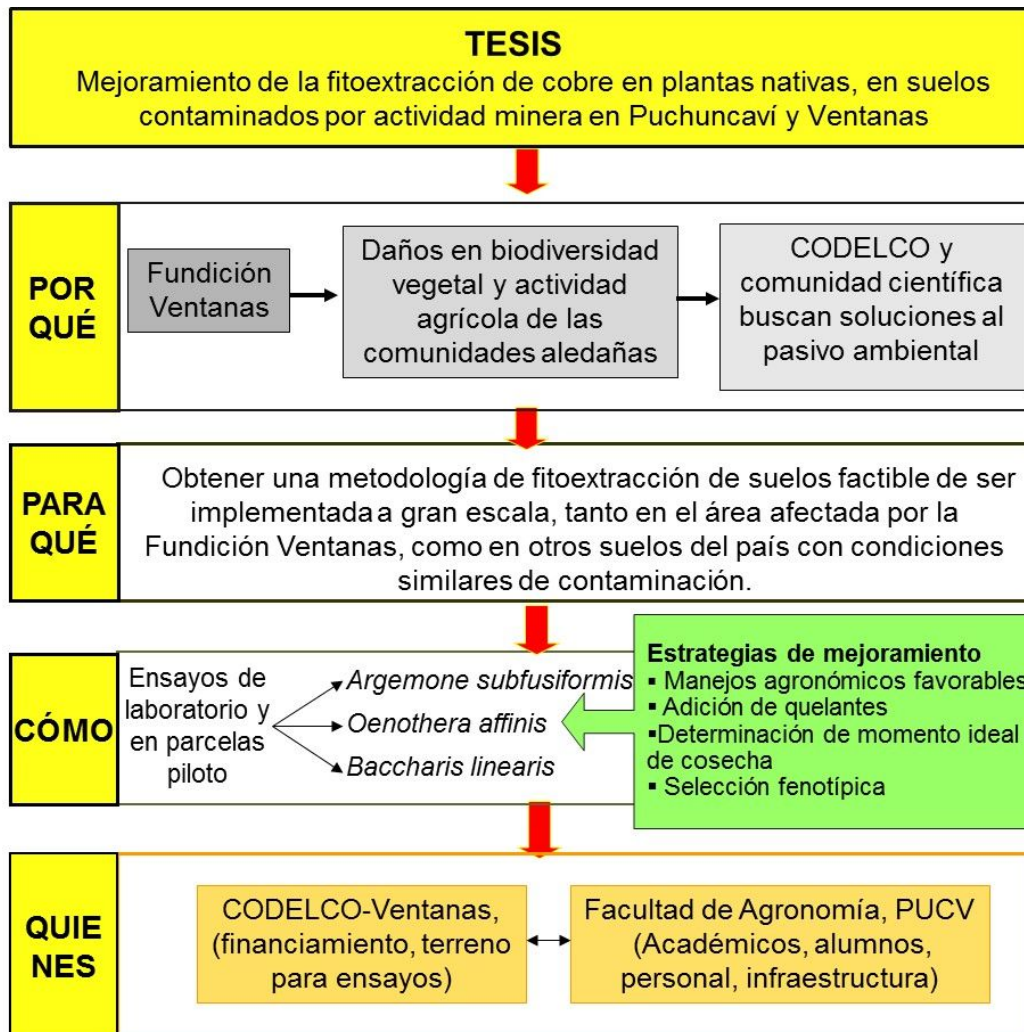


Figura 3. Diagrama de la evolución de la investigación.

Fuente: elaboración propia

**CAPITULO I**  
**BIOREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR**  
**COBRE Y COMPARACIÓN CON TÉCNICAS TRADICIONALES**



En este capítulo se reseñan las técnicas existentes para la biorremediación de suelos contaminados por cobre.

Se describen en primer lugar, las técnicas de biorremediación microbiana y fitorremediación. Se profundiza en la caracterización de la fitorremediación, distinguiéndose las técnicas de fitoestabilización y fitoextracción, como las más útiles para la gestión de metales. Se describen mecanismos biológicos y genéticos involucrados en las técnicas de fitorremediación, las estrategias utilizadas para el mejoramiento de la eficiencia de la técnica y el estado actual del mercado de la fitorremediación, de la biorremediación microbiana y de la remediación tradicional de suelos a nivel mundial. Finalmente se hace una comparación de las ventajas y desventajas de las técnicas tradicionales y las técnicas biológicas.

### **1.1. Biorremediación microbiana de suelos con metales**

La biorremediación de suelos como concepto incluye todas las técnicas que utilizan organismos vivos (microorganismos, microfauna edáfica y plantas) para remediar suelos. Sin embargo, en esta sección solo se describe el uso de microorganismos. En la próxima sección se desarrolla en particular la fitorremediación, dada su importancia para la posterior investigación.

La biorremediación microbiana se refiere específicamente al uso de levaduras, algas, hongos o bacterias para transformar sustancias tóxicas, orgánicas o inorgánicas, en sustancias inocuas. Estos microorganismos logran esta transformación como parte de sus procesos metabólicos naturales. De hecho, todas las interacciones entre los microorganismos y los metales son componentes fundamentales de ciclos biogeoquímicos (Gadd, 2009; Schacht & Ajibo, 2002).

La biorremediación microbiana se diferencia de las técnicas tradicionales por no alterar significativamente la composición química de los suelos. Además, sus costos son mucho más reducidos, ya que estos organismos pueden obtenerse de los mismos sitios contaminados (Alvarez & Illman, 2006).

Lamentablemente, las técnicas de biorremediación, para el caso de suelos con metales, están poco desarrolladas; hoy en día la técnica se aplica más ampliamente a la remediación de contaminantes orgánicos. Esto se debe a que los microorganismos no pueden degradar los metales como ocurre con los contaminantes orgánicos; sin embargo, pueden cambiar sus propiedades químicas (cambiar estado de oxidación o solubilidad) haciéndolos más inocuos (Schacht & Ajibo, 2002).

Para llevar a cabo un proceso de biorremediación se deben utilizar microorganismos capaces de resistir altas concentraciones de metales y, en algunos

casos, resistir condiciones ácidas o salinas. Los microorganismos pueden provenir del mismo emplazamiento contaminado o inocularse a partir de cepas aisladas anteriormente (Tabak et al, 2005).

Aunque las técnicas de biorremediación para metales pueden aplicarse *in-situ*, la mayoría de ellas se aplica *ex-situ*, debido a las dificultades que implica realizar estos procesos en el lugar de la contaminación. Para el caso de los metales, las técnicas de remediación requieren generalmente de una fuente constante de carbono (alimento, a excepción de ciertas bacterias que obtienen la energías del S, Fe o U), a diferencia del caso de los contaminantes orgánicos que entregan por si mismos el C necesario. Las bacterias también requieren otros nutrientes como N, Mg y P y un determinado nivel de oxígeno en el suelo (10%), temperatura (15-45°C) y humedad adecuadas (25-28%). Todo esto hace más eficaz trabajar en biorreactores que en condiciones de campo (Mani & Kumar, 2014).

Por otro lado, debido a que la tasa de reproducción natural de los microorganismos es muy baja, se deben agregar constantemente microorganismos para hacer más eficiente la técnica (Mani & Kumar, 2014).

Entre las técnicas de biorremediación microbiana utilizadas para metales se encuentran la biolixiviación, biosorción y bioprecipitación.

#### 1.1.1 Lixiviación microbiana

La biolixiviación involucra el uso de microorganismos resistentes a metales, bajo condiciones aeróbicas ácidas, a temperaturas entre 15 y 55°C (Akinci & Guven, 2011). Dependiendo de los microorganismos, estos pueden producir la solubilización de los metales mediante tres mecanismos (Figura 10):

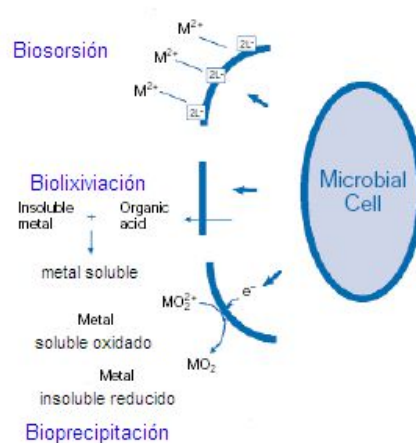
1) La producción de ácidos orgánicos que complejan y, de ésta forma, solubilizan a los metales como por ej. citratos, oxalatos y compuestos sideróforos. Algunos hongos como *Trichoderma harzianum* liberan este tipo de ácidos y también algunas bacterias como *Ralstonia eutropha*.

2) La oxidación de sulfuros de metales para producir ácido sulfúrico, el cual provoca la acidez del medio y la desorción de metales por sustitución de protones. Para esto se utiliza la bacteria *Thiobacillus thiooxidans*, muy estudiada a nivel de laboratorio (Vera et al., 2013)

3) Conversión de  $Fe^{+2}$  a  $Fe^{+3}$ , el cual a su vez oxida los minerales de sulfuro produciendo acidez en el medio, lo que solubiliza los metales. Este proceso se obtiene con la bacteria *Thiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* (Vera et al., 2013; Lloyd, 2002).

En el caso de suelos contaminados con cobre, las estrategias que involucran sulfuros son importantes ya que el cobre proveniente de fundiciones viene acompañado de sulfuros.

El primer mecanismo descrito anteriormente proviene de un metabolismo heterotrófico y los dos siguientes de un metabolismo autótrofo. Los últimos dos mecanismos requieren un pH bajo, así como la adición de sulfuros. El producto final de la biolixiviación es una solución ácida que contiene el metal extraído en forma soluble (Capote et al., 2004).



**Figura 4. Mecanismos de interacción metal-microorganismos**

Fuente: Lloyd, 2002

La biolixiviación se realiza comúnmente en reactores aunque también puede realizarse en pilas o *in-situ* (Mulligan, et al., 2001).

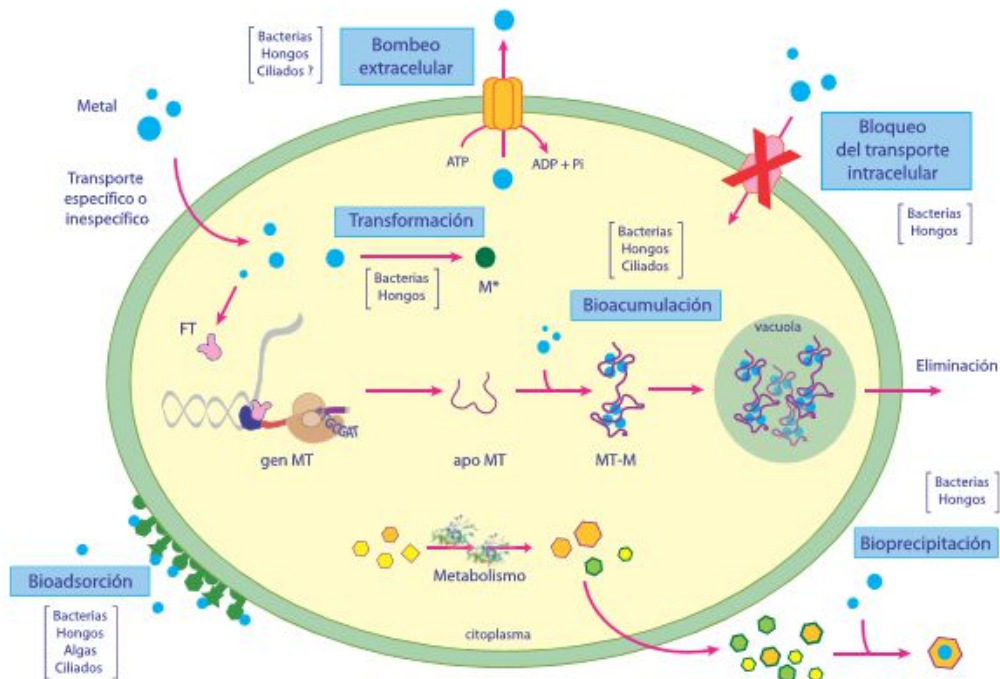
#### 1.1.2 Biosorción (bioadsorción) y bioacumulación

La biosorción implica la adsorción de las partículas de metal por la superficie celular de las algas o bacterias, vivas o muertas (Park et al, 2011) (Figura 5).

Las biomásas utilizadas en los procesos de biosorción son: microorganismos (bacterias, microalgas, levaduras y hongos), vegetales macroscópicos (algas, gramíneas, plantas acuáticas) y partes o tejidos específicos de vegetales (cáscaras, bagazos, semillas) encontrados en residuos de la agricultura y procesos de fermentación de larga escala o en plantas acuáticas. Los grupos funcionales como cetonas, aldehídos, carboxilos, presentes en la pared celular de estas biomásas son los responsables de la captación de metales tóxicos, debido a que generan cargas negativas, originando procesos de intercambio iónico, complejación y adsorción (Lloyd, 2002; Zafar, 2007, Figura 10). Se puede utilizar biomasa viva o muerta para la biosorción. La ventaja de la biomasa viva es que los microorganismos se reproducen, por lo que no es necesario ir retirando la biomasa saturada de metales continuamente. La ventaja de la biomasa muerta es que no necesita de nutrientes (Hussein et al., 2004; Xiaoli et al., 2011).

En la bioacumulación, el mecanismo celular involucra un sistema de transporte de membrana que internaliza al metal pesado presente en el entorno celular, con gasto de energía. Este consumo energético se genera a través del sistema  $H^+$ -ATPasa (Figura 5). Una vez incorporado el metal pesado al citoplasma, éste es secuestrado por proteínas ricas en grupos sulfhidrilos llamadas metalotioneínas o fitoquelatinas o también puede ser compartimentalizado dentro de una vacuola, como ocurre en hongos (Gutierrez, 2011, Pires, 2010).





**Figura 5. Mecanismos de detoxificación de metales pesados presentes en microorganismos.**

M: Metal pesado, M\*: Metal reducido o metilado, MT: Metalotioneína, MT-M: Complejo metalotioneína-metal, FT: Factor de Transcripción. Entre paréntesis se indican los grupos de microorganismos que presentan alguno de estos mecanismos

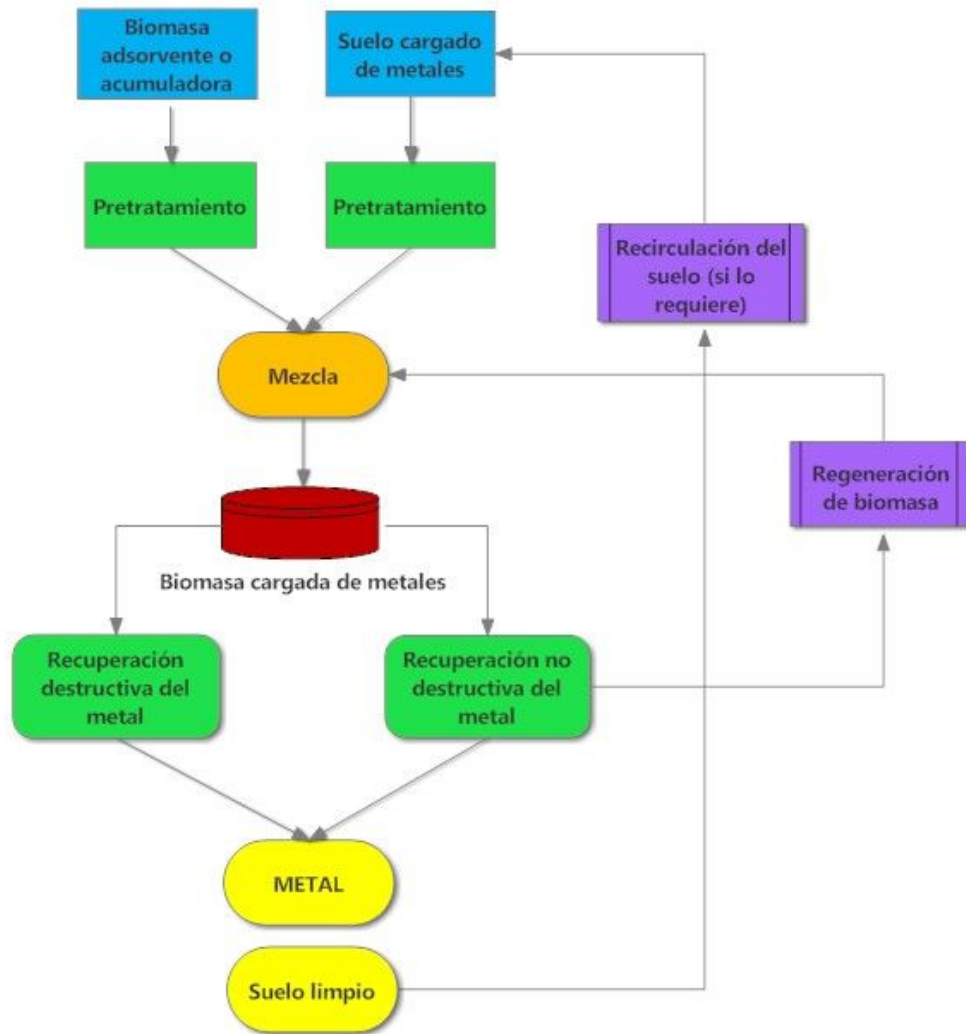
Fuente: Torres, 2010

En el procedimiento de biosorción o bioacumulación *ex - situ*, el suelo debe tamizarse dejando solo su parte más fina. Luego, el suelo es sobresaturado creando una solución. La biomasa adsorptiva o absorptiva se mezcla con la solución de suelo y se deja equilibrar por un tiempo (Figura 6). Posteriormente, en la biosorción, la biomasa cargada de metal se filtra dejando fuera a la biomasa unida a los contaminantes (Vieira & Volesky, 2000). La biomasa (viva o muerta) una vez limpia, puede volver a recircularse al proceso. Igualmente, la solución de suelo, si no está suficientemente limpia, puede recircularse al sistema. Por otro lado el metal obtenido puede recuperarse en su lugar de origen (Alluri et al., 2007). En la bioacumulación solo se espera a la saturación, debiéndose eliminar la biomasa cargada contaminada.

En el caso de la biosorción, la biomasa algal o bacteriana pueden ser pre-tratadas mediante diferentes métodos dependiendo de la especie, antes de mezclarse con el suelo. Si la biomasa es de gran biomasa (algas) puede ser picada antes. La biomasa puede someterse a calor (lo cual aumenta la eficiencia de ciertos grupos de adsorción), a lavado con detergentes, con ácidos (para especies muy particulares) o exposición a ciertas enzimas (que destruyen algunos grupos de moléculas dándole más eficacia a otros) (Alluri et al., 2007).

En el proceso, los metales se adhieren o se almacenan en la biomasa microbiana y posteriormente son filtrados para separar el metal de la biomasa limpia, la cual se recircula al sistema. El suelo también puede recircularse al sistema, para purificarlo aún más.

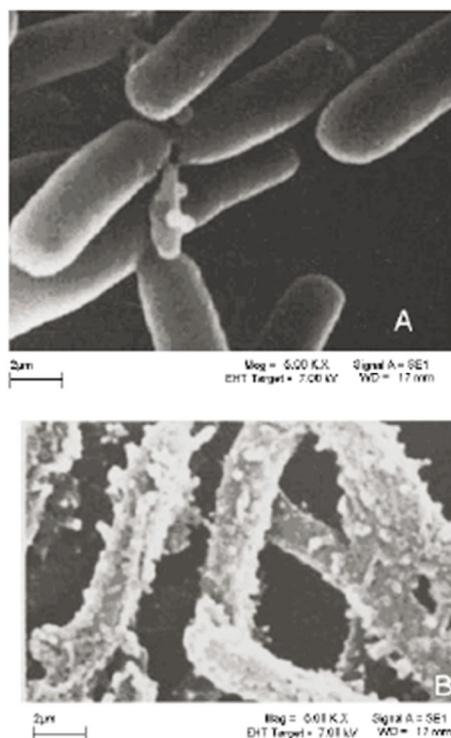
### Proceso de Biosorción/Bioacumulación



**Figura 6. Principios básicos en la eliminación/recuperación de metales por biomasa microbiana o productos derivados.**

Fuente: Elaboración propia en base a Munees y Mulugeta, 2013; Alluri et al., 2007

Como ejemplo, en el caso del Cu, se ha aislado la bacteria *Enterobacter aerogenes*, cuyos grupos hidroxilos presentes en las superficies celulares adsorben el contaminante (Cai et al., 2007). Asimismo la bacteria *Pseudomona veronii*2E absorbe Cd(II) con un máximo a un pH 7,5 y un 40-50% de Cd, Zn y Cu, a partir de sustratos con contaminación mixta (Vullo et al., 2008). Asimismo, distintas cepas de bacillus (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus fusiformis*, *Bacillus firmus* *Bacillus macroides* y *Bacillus licheniformis*) aisladas desde una mina en Johannesburgo (Sudáfrica) demostraron acumular cobre y cobalto eficientemente, aunque con una mayor eficiencia a bajas concentraciones (0,02 M) y a pH de 5,5 y 6,5, para cobalto y cobre, respectivamente (Figura 12).



**Figura 7. Bacillus antes de la acumulación de Cu y Co (arriba) y después de la acumulación (abajo)**

Fuente: Dlamini et al., 2010

La biosorción y bioacumulación son técnicas relativamente baratas, ya que el biosorbente puede ser reutilizado en la biosorción (luego de un proceso de desorción) y en ambas técnicas la materia prima (microorganismos) se puede obtener de sitios contaminados. Además es rápida y selectiva para los contaminantes (Munees & Mulugeta, 2013; Vijayaraghavan & Yun, 2008).

### 1.1.3 Bioprecipitación microbiana

La bioprecipitación se refiere a la formación de compuestos no solubles entre metales y metabolitos generados por ciertos microorganismos, lo que se logra a través de varios mecanismos:

- Las bacterias sulfo-reductoras (SBR) oxidan compuestos orgánicos (por ejemplo etanol) a la vez que reducen sulfatos (como parte de su metabolismo), produciendo sulfuros del metal que se desea tratar (por ejemplo sulfuro de cobre o minerales sulfuro-arsénico). La solubilidad de estos sulfuros de metales es muy baja, por lo que incluso una moderada producción de sulfuros puede inmovilizar metales logrando alcanzar niveles de biodisponibilidad permitidos ambientalmente. El aumento del pH por la presencia de sulfuros hace precipitar finalmente a metales como Al y Cu, en forma de hidróxidos (Pagnanelli et al., 2012; Rodríguez-Freire et al., 2014).

- Otras bacterias utilizan las altas valencias de algunos metales: Fe (III), Mn (IV), U (VI), Cr (VI), etc., como aceptores de electrones para su crecimiento celular anaeróbico. Por ejemplo, la bacteria *Shewanella putrefaciens* reduce el U (VI) a U (IV) formando un precipitado negro de carbonato y reduce el Mn (IV) a Mn (II) (Chubar et al., 2013).

- También es posible la precipitación, en medio alcalino, a través de hidróxidos y carbonatos formados espontáneamente por los microorganismos como mecanismo

de defensa ante el estrés por metales (por ejemplo en *Alcaligenes eutrophus*). Los productos de estos dos métodos de reducción suelen ser muy poco solubles, por lo que quedan inmóviles en el suelo (Kulkarni et al., 2013; Tsezos, 2007).

## 1.2. Fitorremediación

### 1.2.1. Concepto

La fitorremediación se define como el grupo de técnicas que hace uso de plantas para extraer, contener o dejar en formas inocuas los contaminantes del suelo. Dentro de este grupo, se encuentran las técnicas de fitoextracción, fitoestabilización, fitovolatilización y fitodegradación. Mientras la fitovolatilización y fitodegradación se utilizan solamente para compuestos orgánicos, la fitoextracción y fitoestabilización son útiles también para elementos inorgánicos y especialmente para metaloides y metales, como es el caso del Cu y sus compuestos inorgánicos (Warren & Alloway, 2003). En general, las plantas que se utilizan en la fitorremediación de suelos con metales deben poseer la particularidad de ser tolerantes a las altas concentraciones de estos elementos, característica que las hace ser denominadas “metalófitas”. Dependiendo de la técnica de fitorremediación para la cual se utilizan, las plantas presentan distintas estrategias de tolerancia a la contaminación (Becerril et al., 2007).

Las características más relevantes de todas ellas son: que no producen alteraciones negativas en los suelos en los que se aplican y que presentan muy bajos costos de implementación, en comparación a las técnicas tradicionales (Marrero-Coto et al., 2012).

### 1.2.2. Historia de la fitorremediación

El uso de plantas para fines de descontaminación no es un procedimiento tan reciente como parece, de hecho, 300 años atrás el uso de plantas fue propuesto para descontaminar aguas residuales. Al final del siglo XIX, *Thlaspi caerulescens* y *Viola calaminaria* fueron las primeras plantas en las cuales se descubrieron altas concentraciones de metales en hojas (Lasat, 2000). Posteriormente en 1935, un científico llamado Byers reportó que plantas del género *Astragalus* eran capaces de acumular sobre 6000 ppm de selenio en su biomasa aérea seca. Una década después, Minguzzi y Vergnano (1948) identificaron a *Alyssum bertolonii*, capaz de acumular sobre 10.000 ppm de níquel en su biomasa aérea (Lasat, 2000). A partir de estos antecedentes, los científicos Utsunomyia (1980) y Chaney (1983) desarrollaron la idea de utilizar estas plantas para descontaminar suelos. Chaney emitió el primer reporte en USA en el que se usaba la palabra “planta hiperacumuladora”, sugiriéndola como probable método para descontaminar suelos. Ya en 1986, Chaney y otros científicos crearon la empresa “Phytotech”, realizando pruebas de fitorremediación, en los suelos afectados por el accidente de Chernobyl (Faisal, 2008). Pero no fue hasta el año 1991 que el término “fitorremediación” se esparció en la comunidad científica (Barceló & Poschenrieder, 2003).

En las últimas décadas, se ha realizado mucha investigación referente a la fitorremediación por varias razones: el conocimiento de la gran superficie de suelos contaminados por metales a nivel mundial, el conocimiento a cabalidad de los efectos de esta contaminación en los ecosistemas, la presión de la opinión pública y política para encontrar soluciones al problema y finalmente, las consecuencias económicas del deterioro medioambiental (Barceló & Poschenrieder, 2003). Aunque la mayoría de la investigación corresponde a investigación básica (por ej.: Fellet et al., 2007, Mani & Kumar, 2014), esta ha sido la base para la investigación aplicada que ha

situado a la fitorremediación como una de las técnicas de descontaminación de suelos con mayores perspectivas a futuro, considerando sus ventajas comparativas a las técnicas tradicionales. Su bajo costo y sus características “amigables” con el medio ambiente le otorgan claras ventajas sobre los métodos tradicionales. Hoy en día incluso existen empresas dedicadas a prestar servicios de fitorremediación (Por ej., Edenspace, 2008) y otras como Bioplanta, en Alemania (Bioplanta, 2016) y Ecolotree, en USA (Ecolotree, 2015) (Ver sección 1.3.3. y Anexo III, Tabla 1).

### 1.2.3. Técnicas de fitorremediación para suelos contaminados por metales

Se describen a continuación las técnicas de fitorremediación aplicables para el caso del Cu y otros metales, fitoestabilización y fitoextracción. La fitoextracción se abordará con mayor detalle por ser la metodología utilizada en la investigación posterior.

#### 1.2.3.1. Fitoestabilización

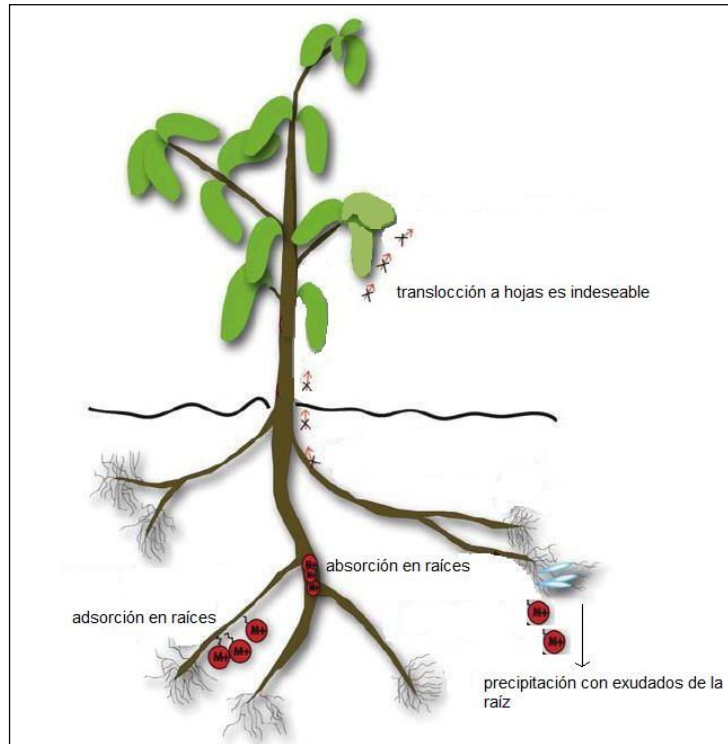
##### Concepto

La fitoestabilización consiste en el uso de plantas tolerantes (metalófitas) para inmovilizar contaminantes en el suelo (Pardo, 2013). Esto se logra a través de la absorción y acumulación de estos contaminantes en la raíz de la planta, a través de su adsorción a la raíz o a su precipitación en la rizósfera (Batista & Sánchez, 2009).

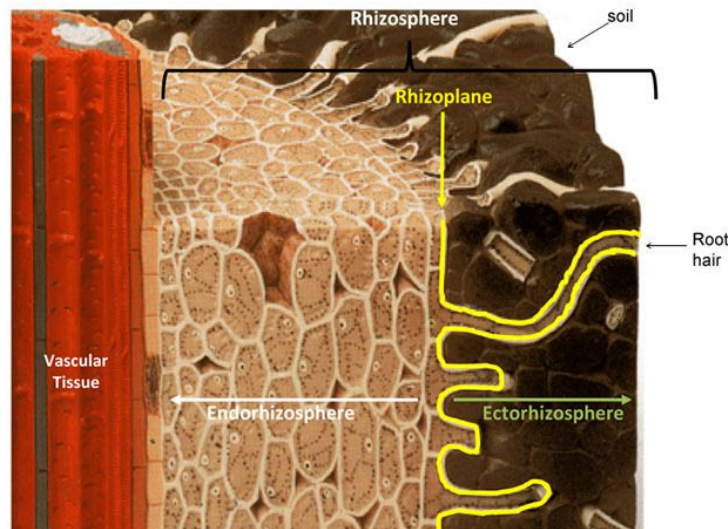
Por medio de la fitoestabilización es posible reducir la movilidad de los contaminantes, ya que se evita la lixiviación hacia napas subterráneas, se previene la erosión eólica e hídrica, se adiciona materia orgánica al suelo y, lo más importante, se impide que los contaminantes entren a la cadena trófica. La cobertura vegetal es además una ventaja estética para el sitio contaminado (Reeves, 2003).

##### Plantas excluyentes

Las plantas que se utilizan para la fitoestabilización deben ser plantas tolerantes, pero además excluyentes, es decir, deben poseer mecanismos que impidan que los contaminantes se transloquen desde las raíces a la biomasa aérea (Figura 8). Los contaminantes deben permanecer dentro o fuera de las raíces, en la rizósfera (ecto o endorrizósfera, Figura 9). De esta forma, aunque la concentración de contaminantes en el suelo sea muy alta, estas plantas son capaces de mantener bajas concentraciones de éstos su biomasa aérea, evitando así su dispersión y la toxicidad para los animales y en consecuencia, para el ser humano (Kidd et al., 2009).



**Figura 8. Esquema de los mecanismos de fitoestabilización de metales en una planta.**  
 Fuente: Méndez & Maier, 2008



**Figura 9. Esquema de la rizósfera de una planta y su relación espacial con el sistema vascular**

Fuente: McNear, 2013

Para fines de estabilización, son necesarias especies herbáceas, arbustivas o arbóreas perennes, ya que probablemente las especies anuales demandarían una nueva siembra año a año, debido a que la germinación natural por semillas en sitios contaminados es muy baja (Ginocchio, 2000; Pulford y Watson, 2003). Lo ideal es una combinación de árboles y especies herbáceas, ya que los árboles previenen la lixiviación y la cubierta herbácea previene la erosión eólica y la escorrentía superficial. Además, las especies deben tener un sistema radical bien desarrollado, con el fin de estabilizar la mayor cantidad de suelo posible (Wong, 2003, Mukhopadhyay & Maiti, 2010).

## Mecanismos biológicos y genéticos de la tolerancia por exclusión

La tolerancia por exclusión puede generarse de dos formas. La primera es la tolerancia generada por la capacidad de la planta de mantener fuera de ella a los metales. Esto se logra mediante la adsorción de los metales a la raíz o su precipitación (Figura 8). La adsorción de elementos a la raíz se logra por los exudados que genera la raíz (ácidos acéticos, oxálicos, tartáricos, málicos, etc.), los cuales quedan unidos a ella uniéndose a la vez a los contaminantes externos, formando así complejos ternarios (superficie-quelante-metal) unidos a la superficie (Robinson et al., 2006). Los mismos exudados pueden provocar la precipitación de los metales en la rizósfera, debido a que las bacterias de la rizósfera modifican el pH del suelo al degradar los exudados y producir CO<sub>2</sub>. Con esto transforman los metales de un estado de oxidación soluble a uno insoluble (Bolan et al., 2011).

Otra forma de tolerancia por exclusión puede lograrse mediante la captura y detoxificación de los metales, una vez que estos entran a las raíces de la planta (Figura 8). La absorción de elementos por las raíces se logra principalmente mediante flujo difusivo (simple o facilitado por transportistas) cuando la concentración de los elementos es alta en el suelo (Lone et al., 2008). Una vez dentro de las raíces, los metales son secuestrados en las vacuolas de las células de las raíces, donde se unen a quelantes que actúan como ligandos, que permiten que el metal no cause daño celular (Mehes-Smith et al., 2013).

La tolerancia por exclusión es una característica gobernada por un número reducido de genes con efectos mayores (genes mayores), aunque también recibe influencia de otros genes (modificaciones menores) que aportan pequeñas modificaciones (Fulekar et al., 2009; Macnair et al., 2000; Memon & Schröder, 2009). Para cobre, esto se ha estudiado en *Mimulus guttatus* y *Silene vulgaris*. También se ha estudiado la tolerancia a múltiples metales. La tolerancia múltiple puede ser lograda por dos vías: a) co-tolerancia, que se basa en la pleiotropía, es decir, que un mismo gen regula la tolerancia a varios metales y b) genes diferentes que regulan para cada metal.

Por otra parte, estudios han demostrado que puede existir la cotolerancia, es decir, que un mismo mecanismo genético infiere tolerancia a dos o más metales, a una misma planta (Macnair et al., 2000).

## Quimiofitoestabilización

Recientemente se ha comprobado que el éxito de la fitoestabilización puede ser coayudado con la aplicación de enmiendas al suelo, previo a la revegetación. Estas enmiendas pueden ser: zeolita, beringita, hierro cerivalente, cal, compost, etc. (Ruttens et al., 2006; Vangronsveld et al., 2009; Alvarenga et al., 2009). El objetivo de estas enmiendas es disminuir la fracción disponible de cobre, mejorando así la estabilización del contaminante.

No se ha definido cuál es la mejor enmienda a aplicar en el caso del cobre, ya que esto depende de las características físico-químicas del suelo en particular, de la interacción con la especie vegetal, así como de las expectativas de remediación y posteriores usos (Ruttens et al., 2006; Santibáñez et al., 2008; Shutcha et al., 2010). La quimiofitoestabilización reduce considerablemente el tiempo necesario para estabilizar los contaminantes. Solo se debe esperar a que el suelo llegue a un equilibrio con las enmiendas añadidas (proceso de semanas-meses). Sin embargo, se debe monitorear en el tiempo que las enmiendas sigan siendo efectivas

(Vangronsveld et al., 2009; Alvarenga et al., 2008).

### 1.2.3.2. Fitoextracción

#### Concepto

La fitoextracción es el proceso en el cual plantas tolerantes acumuladoras de metales son usadas para absorber y concentrar metales del suelo a su biomasa aérea, la que luego es cosechada e incinerada, produciendo una ceniza rica en elementos la cual puede ser luego tratada como desecho peligroso. De esta forma, se disminuye la concentración total del metal en el suelo (Ginocchio *et al.*, 2004; Marrero-Coto et al., 2012).

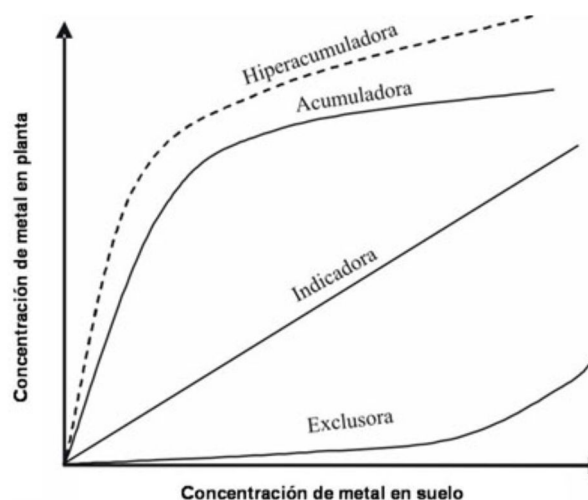
#### Plantas acumuladoras de metales

Las plantas útiles para la fitoextracción son aquellas capaces de tolerar altas concentraciones de metales (metalófitas tolerantes) y a la vez capaces de extraerlos y acumularlos en su biomasa aérea (plantas acumuladoras), sin presentar síntomas de toxicidad. Las plantas acumuladoras, a diferencia de las tolerantes excluyentes, absorben los metales activamente desde el suelo y los acumulan en formas no tóxicas en su biomasa aérea. Entre las acumuladoras se reconocen diversos grados de acumulación, desde pequeñas elevaciones sobre el nivel de fondo hasta concentraciones excesivamente elevadas. Para determinar si una planta es acumuladora se utiliza el "factor de bioconcentración" (FBC), definido como el cociente entre la concentración de un metal en la planta y la concentración del mismo en el suelo (McGrath & Zhao, 2003). Un FBC >1 indica que una planta es acumuladora.

La capacidad máxima de acumulación se denomina hiperacumulación (Figura 10). Una hiperacumuladora se define como aquella planta metalófitas que puede acumular concentraciones de metales pesados de 1000 ppm para Ni, Co, Cu, Cr y Pb y de 10.000 ppm para Zn, independientemente de la concentración de metal en el suelo (Baker & Walker, 1990; Padmavathiamma & Li, 2007; Ali et al., 2013). Los factores de bioconcentración en estas plantas suelen ser mucho mayores a 1, llegando incluso a valores sobre 50 (McGrath & Zhao, 2003).

También existen aquellas que acumulan en forma proporcional a la concentración de metal en el suelo, denominadas indicadoras (Kidds et al., 2007; Ali et al., 2013).





**Figura 10. Respuestas de las plantas tolerantes frente a la presencia de metales pesados en el suelo.**

Fuente: Adriano, 2001

Las plantas hiperacumuladoras representan un bajo porcentaje del total de las Angiospermas (menos del 0,2%) pero están ampliamente distribuidas en diferentes géneros y familias. Actualmente se conocen alrededor de 400 especies hiperacumuladoras (Ali et al., 2013). La mayoría de los taxones descubiertos corresponden a acumuladoras de Ni. Para cobre se conocen 37 especies hiperacumuladoras (Tabla 1). Las especies hiperacumuladoras suelen encontrarse creciendo en vetas de mineral, por lo que se han desarrollado diversas investigaciones orientadas a prospectar estas especies (por ej.: Chehregani et al., 2009; Wang et al., 2009).

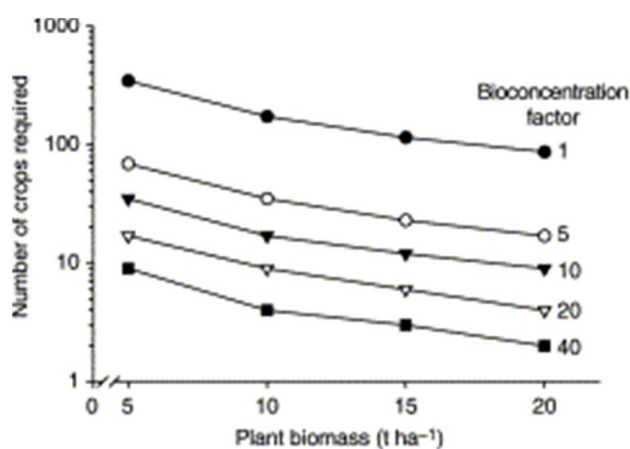
**Tabla 1. Principales familias y géneros de especies hiperacumuladoras de metales.**

Elemento	Nº de taxas	Familias principales	Géneros principales
Ni	317	Violaceae	Hybanthus
		Flacourtiaceae	Homalium
		Euphorbiaceae	Phynthus
		Brassicaceae	Alyssum L.
Zn	18	Brassicaceae	Thlaspi y Cardaminopsis
Pb	14	Poaceae	Arrhenatherum
		Brassicaceae	Thlaspi, Brassica
		Fabaceae	Sesbania
		Apocynaceae	Hemidesmus
		Plantaginaceae	Plantago
Cu	37	Lamiaceae	Aeollanthus
		Scrophulariaceae	
		Convolvulaceae	Ipomea
		Crassulaceae	Crassula
		Commelinaceae	Commelina

Co	28	Lamiaceae	Haumaniastrum
		Scrophulariaceae	Crotalaria
		Asteraceae	
		Fabaceae	
Mn	9	Myrtaceae	Austromyrtus y Gossia
		Phytolaccaceae	Phytolacca
		Proteaceae	Virotia
		Celastraceae	Maytenus
Cd	4	Brassicaceae	Thlaspi y Arabidopsis
		Asteraceae	Bidens

Fuente: elaboración propia a partir de Bhargava et al., 2012

Por otro lado, el éxito de un proceso de fitoextracción no solo depende de la concentración de metales que contenga la planta acumuladora; también depende de la producción de biomasa de la planta. Las plantas ideales para la fitoextracción deben ser capaces de producir grandes cantidades de biomasa en poco tiempo (Gerth, 2000; Delgadillo-López et al., 2011). Se ha modelado la cantidad de ciclos necesarios para remediar un sitio con X concentración de metal, con diferentes FBC. Una producción de biomasa de 10 a 20 ton/ha en combinación con un FBC >20 permitirían reducir a la mitad las concentraciones de metales de un suelo en un lapso menor a 10 años (Figura 11), período que según varios autores se considera aceptable para llevar a cabo un proceso de fitoextracción a gran escala (Van Nevel et al, 2010, Vassilev et al., 2004)



**Figura 11. Cálculo simulado del número de cosechas requeridas para reducir a la mitad las concentraciones de metales en un suelo superficial (20 cm).**

Los resultados muestran que se requiere un alto factor de bioconcentración y una alta producción de biomasa para poder remediar un suelo de forma eficiente.

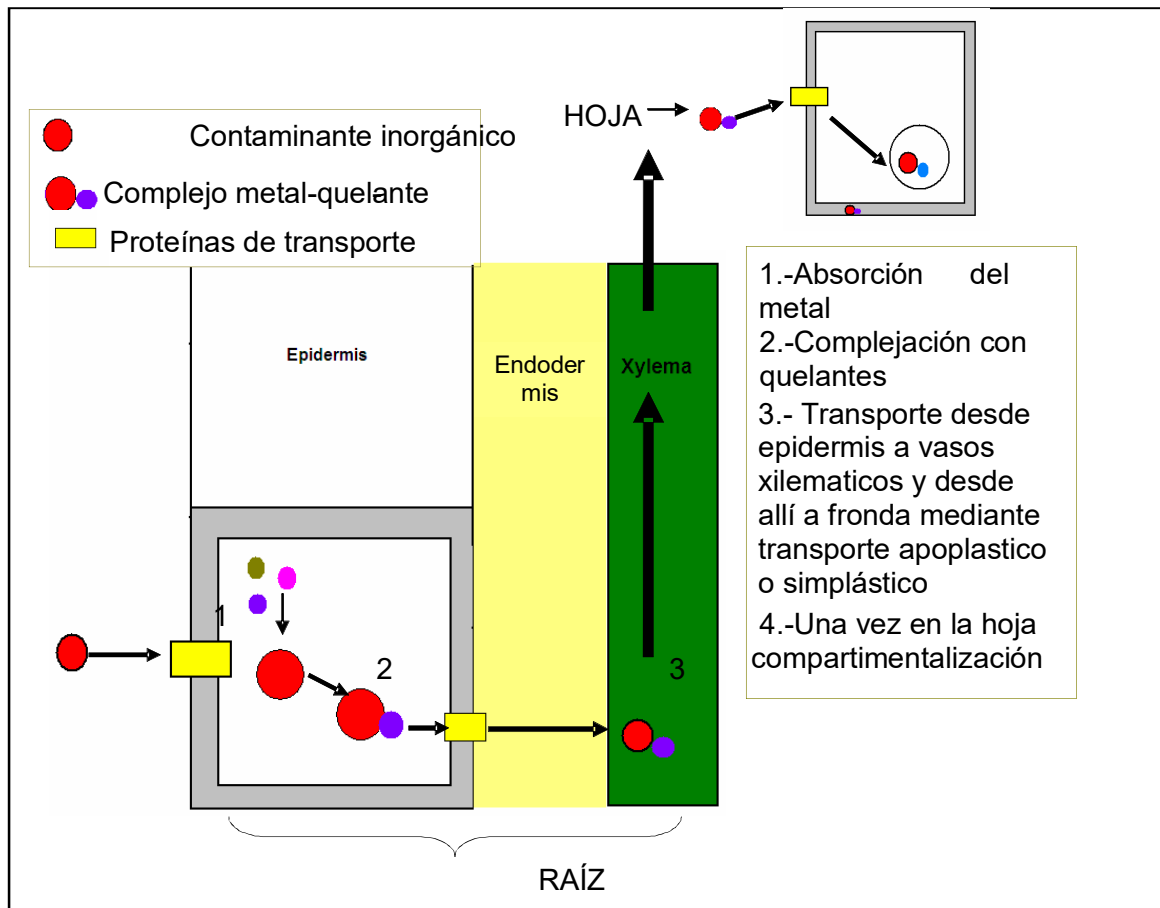
Fuente: McGrath & Zhao, 2003

Considerando esto, es ideal en la remediación de un sitio contaminado, trabajar con especies que además de ser tolerantes, estén adaptadas a las condiciones edafo-climáticas del área (Becerril et al., 2007; Sheoran, 2009). Esto, porque al utilizar especies hiperacumuladoras o acumuladoras provenientes de ecosistemas distintos, éstas pueden variar mucho sus respuestas fisiológicas, produciendo menor biomasa, acumulando menos metales e incluso, en algunos casos, si no son capaces de adaptarse a las condiciones, pueden morir. Por otro lado, la introducción de flora exótica en un área, aún con fines de descontaminación podría causar un daño adicional al ecosistema.

## Mecanismos biológicos y genéticos del proceso de fitoextracción

El proceso de extracción de los contaminantes del suelo se realiza por las raíces de las especies acumuladoras, las cuales absorben los contaminantes desde el sustrato. Esta absorción se realiza ya sea pasivamente, por el flujo del agua a través de los poros de la pared celular (proceso no-selectivo), o mediante transporte activo a través de proteínas transportadoras de la membrana (CDF por las siglas Cation Diffusion Facilitator), proteínas transportadoras hierro-sensibles (ZIP-IRT) o proteínas transportadoras de metales pesados tipo P o P1B-ATPasa. Por ejemplo, en el caso del cobre estas proteínas se denominan Proteínas Transportadoras de Cobre (COPT) y P1B para cationes monovalentes. Todas ellas se encuentran en forma natural en la membrana celular ya que algunos de los contaminantes inorgánicos son también nutrientes (Figura 12). En el caso de los metales no esenciales, la absorción se explica dado que su radio iónico es similar a metales esenciales o tienen características químicas similares, por ejemplo el Ni y el Fe que pertenecen al mismo grupo de metales. También el Ni entra a la planta mediante transportadores de Zn (Mehes-Smith, 2013; Milner y Kochian, 2008).

El número de proteínas transportadoras, la afinidad con el sustrato y la especificidad de las proteínas varían en cada especie y también entre individuos de una misma especie; sin embargo, es un hecho que las especies hiperacumuladoras poseen más proteínas transportadoras por gramo de peso seco que las plantas normales. Las plantas hiperacumuladoras también demuestran tener un alto grado de selectividad, acumulando solo metales específicos desde el sustrato (Epstein & Bloom, 2005; Pilon-Smiths, 2004).



**Figura 12. Esquema de los procesos biológicos implicados en la fitoextracción**

Fuente: elaboración propia a partir de Milner & Kochian, 2008; Rascio & Navari-Izzo, 2011

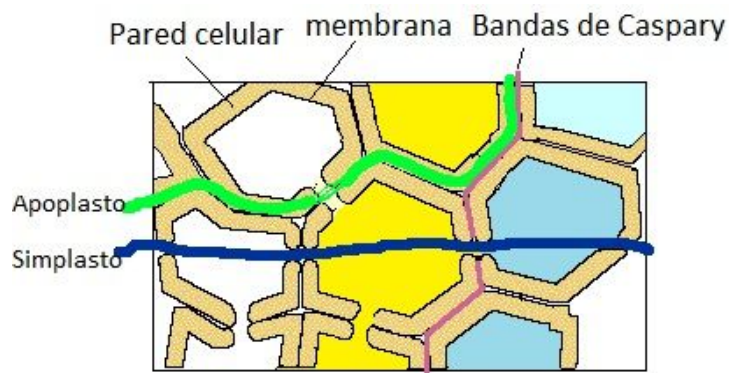
La clave para entender la cantidad de metal que es capaz de absorber una hiperacumuladora está en la genética que gobierna a las proteínas de transporte. En plantas hiperacumuladoras, la expresión de los genes que codifican para las proteínas de transporte en las raíces es casi completamente indiferente a la concentración interna del elemento, lo que permite que pueda extraerlos en grandes cantidades. Esto sucede, por ejemplo, en *Thlaspi caerulescens* en la que el mecanismo de retroalimentación para dejar de expresar los genes ZNT-T y ZNT-2 se ve activado solo con concentraciones 50 veces mayores que las necesarias en una especie relacionada no-acumuladora tolerante *Thlaspi arvense* (Cluis, 2004; Mehes-Smith, 2013).

Luego de ser absorbidos por las células de las raíces, los elementos deben llegar al xilema, para esto, deben atravesar las células de la endodermis de la raíz, y las bandas de Caspary, lo que se hace mediante proteínas del tipo-P ATPasas (HMAs) y las proteínas tipo-franja amarilla-1 (YSL). No se conoce el mecanismo genético que gobierna a estas proteínas. Una vez alcanzado el xilema, los elementos son transportados por el apoplasto xilemático vía simple difusión con la savia (Milner y Kochian, 2008) (Figura 12). Para esto, los metales se unen, en las células de las raíces, a ligandos como: péptidos, aminoácidos y ácidos orgánicos, formando un complejo. Esta complejación es la que evita la toxicidad en la planta (Epstein & Bloom, 2005; Mehes-Smith, 2013). La producción de estos compuestos en altas cantidades es una característica esencial en las plantas tolerantes e hiperacumuladoras (Barceló & Poschenrieder, 2003; Rascio & Navari-Izzo, 2011).

En plantas hiperacumuladoras es deseable una relación entre concentración

de metal biomasa aérea / raíces mayor a 1, lo que significa que existe una eficiente translocación a la parte aérea. La velocidad de translocación depende del flujo/tasa de transpiración (Epstein & Bloom, 2005).

Una vez alcanzan la parte superior de la planta, los contaminantes son distribuidos a las hojas vía transporte simplástico o apoplástico (ayudado por proteínas YSL) (Figura 13) y finalmente almacenados en las células de las hojas, siendo compartimentalizados generalmente en las paredes celulares, principalmente en las vacuolas de células epidermales y subepidermales<sup>4</sup> y, en otras especies, en las vacuolas de los tricomas (Mehes-Smith et al., 2013; Milner y Kochian, 2008). Cuando el complejo de quelante-metal entra a la célula y llega a la pared de la vacuola donde se almacenará, se disocia del quelante. El metal entra a la vacuola por transporte activo, mediante proteínas de la familia de las ATPasas, tipo CPx, Nramp's (natural resistance-associated macrophage proteins), CDF's (cation diffusion facilitator) y CAX's (cation exchanger) (Leitenmaier & Küpper, 2013). Luego de penetrar la vacuola, el metal se une a otro quelante que actúa como "aceptor final" y con el cual forma complejos mucho más estables que con el primer quelante. De esta forma, se sigue evitando la toxicidad que causaría el metal en la planta (Mehes-Smith et al., 2013; Pilon-Smiths, 2004). Los genes que codifican los transportadores vacuolares han sido caracterizados en cierta medida (por ejemplo, genes MTP en *Thlaspi goesingense*) (Leitenmaier & Küpper, 2013).



**Figura 13. Esquema de las vías apoplásticas y simplásticas en una planta**

Fuente: Etyosa, 2010

Como se logra deducir, el grado de acumulación del metal en parte aérea de la planta depende tanto del grado de extracción del metal a nivel de las raíces, como del grado de translocación de dicho metal a la parte aérea. Por lo tanto el punto clave para el proceso es la producción de las proteínas que permiten la absorción, el transporte y finalmente el almacenaje en las vacuolas. Por esto, se deduce que la capacidad de extracción en una planta depende a lo mínimo de más de un gen (Kramer, 2010; Rascio, & Navari-Izzo, 2011).

#### Mecanismos biológicos y genéticos de la tolerancia por hiperacumulación

La fitoextracción, cuenta con una forma de tolerancia distinta a la de las plantas excluyentes. Las acumuladoras, al ingresar los contaminantes a sus raíces o llegar a depositarse en las hojas, detoxifican los metales dentro de sus órganos al unirse a los quelantes, logrando así tolerancia, tal como se explicó anteriormente.

<sup>4</sup> Las células epidermales no tienen cloroplastos por lo que el transporte de los metales por su citoplasma no inhibe la fotosíntesis

La tolerancia en las hiperacumuladoras depende directamente de los ligandos, péptidos (fitoquelatinas y metalotioneínas), aminoácidos y ácidos orgánicos (ácidos cítrico y málico, histidina, y cisteína) (Figura 14).

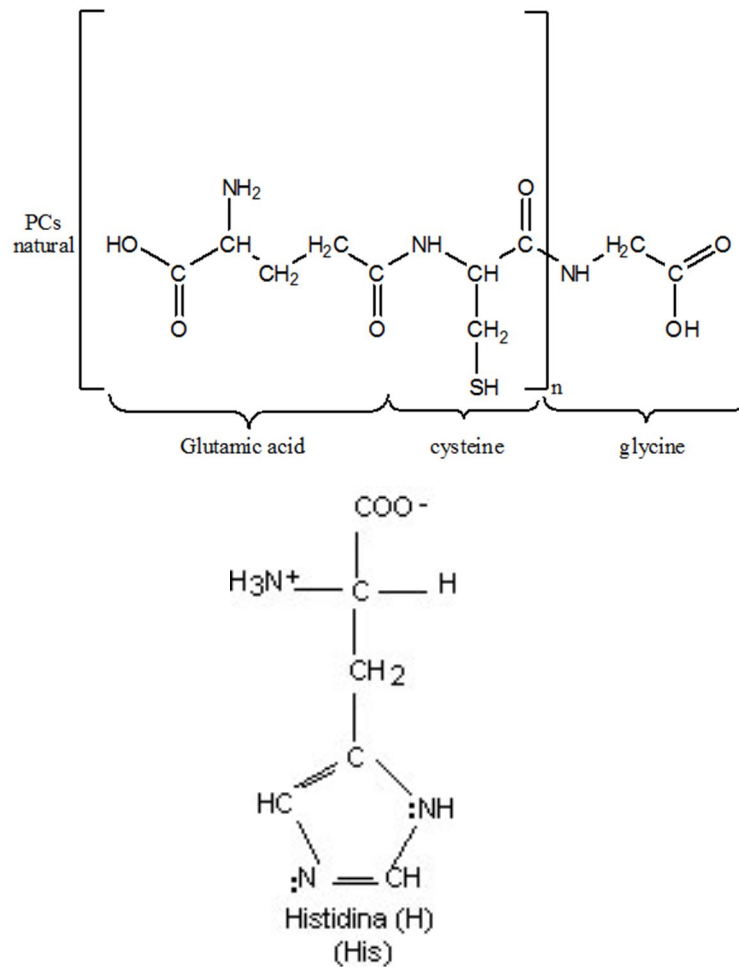


Figura 14. Estructura química de la fitoquelatina (izquierda) y de la histidina (derecha).

Fuente: Merlos et al., 2016

En plantas acumuladoras, la producción de estos ligandos es mucho mayor que en una planta normal. La expresión de los genes para estos ligandos de detoxificación puede ser inducida por los altos niveles de elementos inorgánicos dentro de la planta. Esto se ha comprobado específicamente para el cobre, en los genes MT2 (codifican para metalotioneínas), en *Arabidopsis*<sup>5</sup>, que se expresan en presencia de Cu. Esto no sucede con las fitoquelatinas en esta especie, por tanto la tolerancia de Cu al menos en *Arabidopsis* depende casi exclusivamente de las metalotioneínas. En trigo el gen que codifica para la fitoquelatina (TaPCS1) ha demostrado conferir resistencia al Cd (Memon & Schröder, 2009). En *Allysum serpyllifolium* y *A. lesbiacum* el gen ATP-pRT estimula la concentración de histidina y un mayor concentración de Ni en la planta (González-Mendoza & Zapata-Pérez, 2008). Se deben investigar aún otras especies.

Por otro lado, se ha comprobado que la expresión de los genes que codifican para fitoquelatinas y metalotioneínas puede ser inducida por condiciones de estrés oxidativo que no tienen que ver con metales, incluyendo golpe de calor, estarcación

<sup>5</sup> especie en la cual se han realizado la mayoría de los estudios genéticos de tolerancia a metales

por nutrientes, senescencia y abscisión (Pilon-Smiths & Pilon, 2002).

No se sabe con claridad la relación entre la tolerancia por detoxificación interna y el grado de acumulación. Algunos estudios han demostrado que la tolerancia es una característica independiente de la hiperacumulación, gobernada por genes distintos. De hecho, la alta acumulación de los metales en una hiperacumuladora depende de las proteínas presentes en la raíz y posteriormente de la no acumulación en la raíz (baja secuestación), el eflujo desde el tonoplasto y posterior translocación a la parte aérea acompañado de proteínas transportadoras (Pollard et al., 2002; Rascio & Navari-Izzo, 2011). La mayoría de los avances se han hecho en elucidar la genética de la tolerancia. Aún no se clarifica cual es la genética que domina el grado de acumulación de una especie (Memon & Schröder, 2009).

### 1.2.3.3. Estrategias de mejoramiento de la fitoextracción

#### Factores que limitan la fitoextracción

Una de las principales desventajas de la fitoextracción es el largo tiempo requerido para remediar un suelo (Tangahu, 2011). Investigaciones han revelado que en plantas con factores de bioconcentración  $<1$  la remediación requerirían varios siglos para remediar un suelo, dependiendo de las características del suelo y la biomasa producida (Karami & Shamsuddin, 2010). En el caso de las hiperacumuladoras, la principal falencia que presentan es que, si bien concentran gran cantidad de metales en sus tejidos, en general producen muy baja biomasa y son de crecimiento lento. Plantas con factores de bioconcentración  $>1$  (entre 1 y 5) pero con producciones bajas de biomasa ( $>20$  ton/ha), requerirán más de 100 ciclos de cultivo (Figura 11).

Por otro lado otra de las dificultades que presenta la fitoextracción es la baja disponibilidad de los elementos en el suelo, lo que limita la absorción por parte de la planta (Vamerali, 2010). Si bien una planta puede tener una alta capacidad de extracción y una alta producción de biomasa, una biodisponibilidad de metales limitada en el suelo, frenará un proceso de fitoextracción (Mertens et al., 2005). La biodisponibilidad es entonces considerada una condición *sine qua non* para el éxito de la remediación de un suelo. Muchos factores edáficos influyen en la biodisponibilidad de los metales en el suelo, tal como se describe en detalle en el Anexo 1, sección 1.3. Es por esto que la identificación de una planta con potencial para la fitoextracción no es suficiente para comenzar un proceso de fitorremediación. Se debe siempre **testear** la capacidad de la planta de extraer los metales, **en el suelo a remediar** (Hernandez-Allica et al., 2008).

Otro de los factores que limita la fitoextracción es la escasez hídrica y escasas de nutrientes típica de zonas áridas y semiáridas. Si bien las plantas pueden producir alta biomasa, en condiciones de sequía y falta de nutrientes esenciales esta biomasa no se expresa (Méndez & Maier, 2008).

Se debe considerar aparte el caso de sitios con contaminación polimetálica, donde la extracción con una especie hiperacumuladora pudiese ser efectiva para un metal pero no para el resto, debiéndose repetir el proceso para el resto de los metales (Robinson et al., 2006).

## Estrategias de mejoramiento existentes

En respuesta a las dificultades antes mencionadas, numerosas investigaciones a nivel internacional demuestran que es posible mejorar la eficiencia de la fitoextracción en acumuladoras hiperacumuladoras, disminuyendo así el tiempo necesario para remediar un suelo afectado por un contaminante determinado. Estos mejoramientos, se orientan ya sea a aumentar la biomasa o capacidad de extracción de la planta, o a hacer más disponibles los elementos en el suelo para facilitar la extracción. Estos efectos pueden obtenerse por diversas vías:

- 1.- Mejoramientos agronómicos
- 2.- Extracción con quelantes
- 3.- Mejoramiento genético
- 4.- Micorrización de las plantas

(Karami & Shamsuddin, 2010; Van Nevel et al., 2007)

Existen otras estrategias, que se han desarrollado recientemente, como la inoculación con bacterias endofíticas, que pueden mejorar la extracción mediante producción de sideróforos y biotensioactivos (también hay bacterias que atrapan al metal manteniéndolos en las raíces, siendo útiles para la fitoestabilización) (Weyens et al., 2009, Babu et al., 2013; Rajkumar et al., 2012; Montalbán, 2015). También se ha comprobado la utilidad (variable dependiendo del producto, la planta y el suelo) del uso de fitohormonas reguladoras (fitohormonas) como auxinas, citoquininas o giberelinas para promover el aumento de biomasa en hiperacumuladoras (Cabello, 2015). Estas estrategias no serán incluidas en esta revisión.

También se ha descubierto que algunos cultivos considerados “energéticos”<sup>6</sup>, que producen alta biomasa, son tolerantes y acumuladores de metales, tales como *Brassica* spp, *Phaseolus vulgaris* (frijol), *Zea mays* (maíz), *Festuca* sp (gramínea). Si bien algunos no se consideran hiperacumuladores, la gran cantidad de biomasa producida hace eficiente un proceso de remediación con estas especies. El desarrollo de este tipo de cultivos ha crecido en interés en los últimos años en Europa y USA, principalmente por su ventaja de producir biocombustible, y dar uso y remediar tierras contaminadas (Vamerli, 2010).

### Mejoramientos agronómicos

Es posible escoger enmiendas y fertilizantes, ya sea para aumentar o disminuir la absorción de metales por la planta. Ciertos tratamientos pueden aumentar o disminuir el pH, lo que hace más o menos disponibles a algunos elementos y/o compuestos. Otros tratamientos pueden beneficiar indirectamente la extracción, favoreciendo, por ejemplo, el establecimiento (o nutrición) de las plantas, produciendo un aumento de biomasa.

Por ejemplo, las plantas responden favorablemente a la fertilización con fósforo y nitrógeno, aumentando su producción de biomasa (Vangronsveld et al., 2009). Sin embargo, la adición de P puede en algunos casos inhibir la absorción de algunos contaminantes. Estudios en *Brassica juncea* en un suelo levemente ácido (pH 6,3) demostraron que la aplicación conjunta de P y N produjo un aumento del triple en la extracción de Cu en la planta, en comparación con la aplicación de N, P y

---

<sup>6</sup> Los cultivos energéticos son plantaciones de crecimiento rápido (y que requieren prácticamente nulos manejos y sean capaces de crecer en suelos marginales) que se realizan con el propósito específico de producir energía en alguna de sus tipologías: térmica, eléctrica o mediante su transformación en biocarburantes.



K por separado y la aplicación de NPK en conjunto (Wo et al., 2004). Estudios en la especie *Sedum alfredii*, aplicando fosfatos en diferentes formas, demostraron que estas enmiendas aumentaron la extracción de Zn gracias al aumento de la biomasa y de la concentración del metal en la biomasa aérea; sin embargo, disminuye la extracción de Cd, ya que este metal compite con el zinc por los sitios de absorción (Huang et al., 2012).

El sulfato de amonio y el azufre elemental se utilizan bastante, ya que proveen de N y S a las plantas, a la vez que acidifican el medio volviendo a los metales más disponibles. En ensayos con Cd, Zn y Ni, utilizando gramíneas, la concentración de Cd aumentó 1,5 veces en las plantas, mientras que la de Zn y Ni dos veces, luego de la aplicación de sulfato de amonio, disminuyendo el pH de 5,5 a 4,9, y todo ello sin afectar la producción de biomasa. Otros ensayos han dado resultados similares (Smith, 2003). Otro trabajo demostró que la aplicación de sulfato aumentó la concentración de Cd y Zn solo en las raíces en *Sorghum bicolor* (Zhuang et al., 2009). Otros estudios, como el realizado por Fässler et al. (2010) indican que en plantas de tabaco, el S elemental aumentó la extracción pero que el sulfato de amonio no tuvo efectos significativos sobre la extracción de metales.

En síntesis, la aplicación de fuentes de azufre puede ser una alternativa de bajo costo pero que solo incrementa levemente la extracción, pero en otros casos no tiene efectos, dependiendo de la especie usada, el tipo de suelo y el grado de contaminación inicial de éste. El lado negativo de esta alternativa es que la acidificación incrementa la solubilidad de los metales aumentando su lixiviación hacia las aguas subterráneas, lo que aumenta el riesgo ambiental (Ghosh & Singh, 2005).

En un estudio realizado por Brunetti et al. (2012), la adición de compost a suelos alcalinos altamente contaminados por Cr aumentó significativamente la extracción de éste por tres especies de Brassicas; sin embargo, en otro estudio con *Nasturtium officinale*, la adición de compost a suelos alcalinos redujo significativamente la absorción de plomo y manganeso por las plantas (Hashimoto et al., 2011). En suelos ácidos y neutros, la adición de compost en general reduce la acumulación total de metales por parte de las plantas (Sato et al., 2010; Caporale et al., 2013). Los efectos de esta enmienda dependen entonces de las condiciones iniciales del suelo, así como de las plantas utilizadas. Independientemente del efecto en la solubilidad de los metales, el compost, así como el estiércol, favorece significativamente el crecimiento de las plantas, ya que provee una fuente importante de nutrientes, siendo este efecto mayor cuando se aplica a suelos pobres en nutrientes (Hartley et al., 2009; Pichtel & Bradway, 2008).

En general, el encalado de suelos ácidos se asocia a una disminución de los niveles de metales disponibles en el suelo, lo que va asociado a la formación de hidróxidos insolubles de los metales en el suelo (a excepción de los metaloides As y Sb que aumentan su solubilidad con el pH, dado que sus formas iónicas tienen carga negativa) y, como consecuencia, a una disminución de la absorción por parte de las plantas (Castaldi et al., 2005; 2009; Elouear et al. 2014). Esta enmienda se utiliza más comúnmente en la quimiofitoestabilización (ver 1.3.3.1). Sin embargo, la disminución de la biodisponibilidad no se da en todos los casos de estudio. Ensayos con el pasto *Vulpia myuros* en suelos contaminados por mercurio (1700-3000 ppm) revelaron que la adición de cal aumentaba la extracción de este elemento así como la producción de biomasa en todos los rangos de concentraciones de Hg (Heeraman et al., 2004). Ensayos con *Thlaspi caerulescens* (Prayon) aplicando  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  y nitrógeno demostraron que el nitrato de calcio aumenta la concentración de zinc en la biomasa aérea de la planta (Monsant et al., 2008). Ensayos con una variedad de cultivos (papa, lechuga, habas, tomate, etc.) demostraron que, en suelo levemente

ácidos (5,9-7), el encalado disminuía la cantidad de metales disponible en el suelo y disminuía asimismo su contenido en los cultivos (Cd, Ni y Zn); sin embargo, no afectaba e incluso aumentaba la concentración de Cu presente en éstos cultivos y en todos los casos, aumentaba la producción de biomasa (Brallier et al., 1994; Paulose et al., 2007). En todos estos casos, las concentraciones de Cu en los tejidos estaban en un rango bajo de toxicidad (entre 10 y 40 mg kg<sup>-1</sup>, en los suelos con o sin enmiendas). La explicación para esta variación en el caso del Cu es que, en suelos muy ácidos, la elevación del pH produce que los metales sean retenidos en mayor cantidad; sin embargo, en suelos ligeramente ácidos, el Ca<sup>+2</sup> añadido actúa como un cambiador que compite con otros cationes que están unidos a los sitios de sorción del suelo (el Ca<sup>+2</sup> tiene un radio de hidratación menor que el Cu<sup>+2</sup>, por lo que es más fuertemente retenido por el cambiador). Por esto, en estos casos el encalado podría aumentar la disponibilidad de algunos metales (Fassbender, 1987).

Se ha demostrado que la adición de biocarbon (carbón hecho con restos vegetales quemados a baja temperatura) a suelos ácidos (fuerte y moderadamente ácidos) tiene efectos similares al encalado, disminuyendo la solubilidad de los metales, a excepción del Cu, cuyo aumento se relaciona al aumento de compuestos orgánicos solubles. Otra excepción es el As (metaloide), que aumenta debido al aumento del pH (Lu et al., 2014; Beesley et al., 2010).

Las leguminosas son conocidas por asociarse con bacterias del género *Rhizobium*, fijadoras de N, por lo que, con su cultivo en forma intercalada con plantas acumuladoras, los suelos reciben un suplemento de N, beneficiando la nutrición de las plantas y, por tanto, su producción de biomasa (Nabors, 2006).

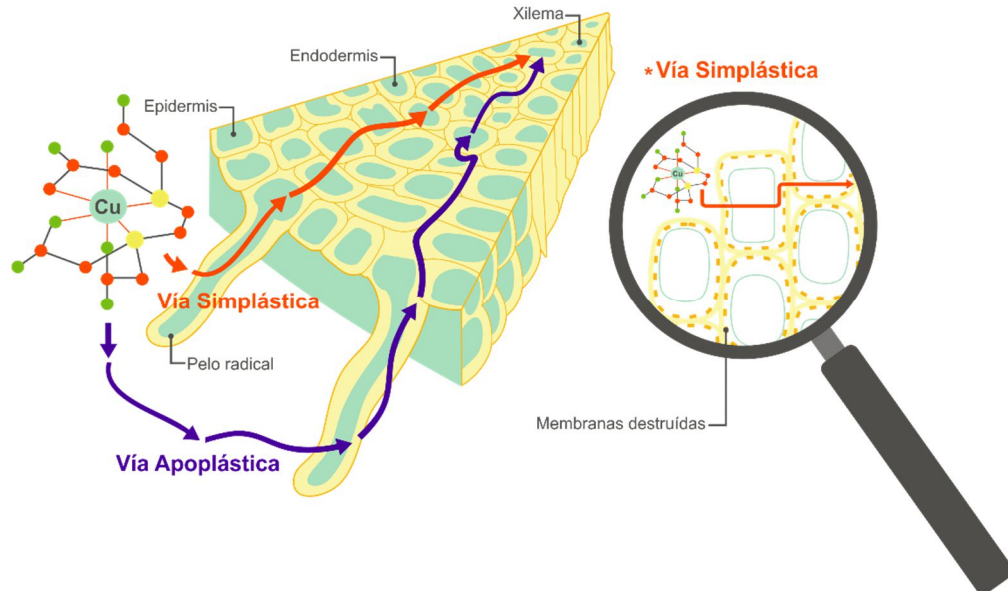
#### Extracción con quelantes

La efectividad de la fitoextracción casi siempre está limitada por los procesos de sorción de metales sobre las partículas del suelo y por la baja solubilidad/disponibilidad de algunas especies metálicas. Este hecho hace que la cantidad de contaminante que puede extraer la planta acumuladora sea solo una fracción en relación a la concentración total del contaminante en el suelo, que por tanto, no es posible remover completamente (Pivetz, 2001; Evangelou et al., 2007).

Los quelantes son compuestos químicos, normalmente de origen sintético, que muestran una gran eficacia para atrapar cationes metálicas y formar enlaces covalentes coordinados con ellos. Los complejos que así se forman se llaman quelatos o metal-quelatos. La mayoría de los agentes quelantes consisten en aniones orgánicos complejos, con dos o más grupos funcionales que son capaces de compartir pares de electrones con un ion metálico localizado centralmente. Estos pares de electrones ocupan los niveles electrónicos libres del ion metálico, dando lugar a anillos en los que está incluido el ion. Con esto aumenta la solubilidad del metal en el suelo, ya que el quelato es más soluble que la especie metálica (Fernández, 2005).

En cuanto a la forma de entrada de los metales solubilizados en la planta, la evidencia indica que el complejo metal-quelante entra a las células epidermales sin disociarse. Luego, las evidencias más recientes han comprobado que, a bajas concentraciones (<200 µmol/L para Cu), el complejo metal quelante llega al xilema vía apoplástica (transporte pasivo), especialmente por la punta de las raíces, donde las bandas de Caspary no están desarrolladas y por tanto no impiden el paso de la molécula (Cestone et al., 2012; Niu et al, 2011). A altas concentraciones (>3000 µmol/L para Cu) las células de la membrana son dañadas por la toxicidad a metales

alterándose su permeabilidad y dejando entrar a los complejos metal-quelante, vía transporte activo (vía simplástica), complementariamente al transporte pasivo (Figura 15). Una vez en el xilema, los complejos son rápidamente translocados a la biomasa aérea de la planta (Niu et al., 2011).



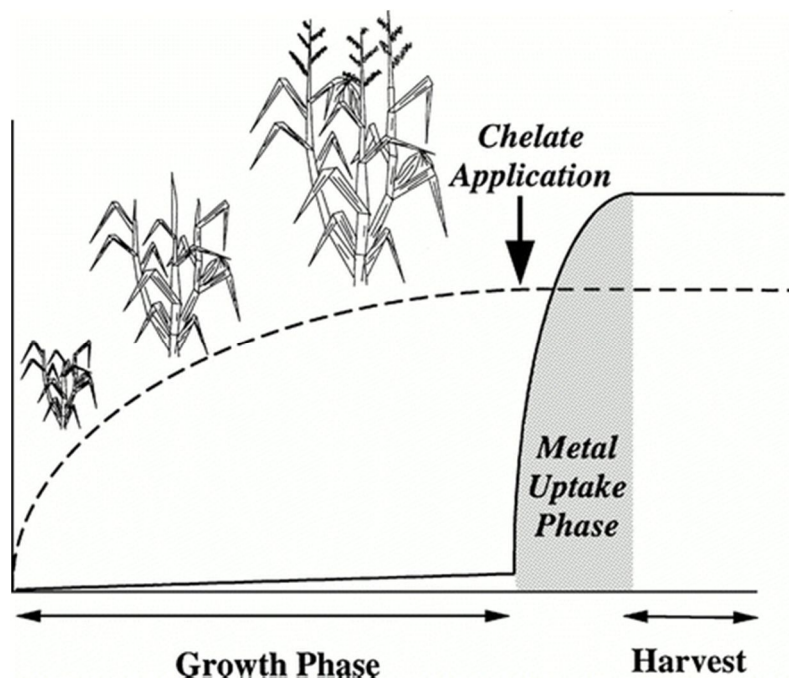
**Figura 15. Esquema de la entrada del complejo metal-quelante a la planta.**

La entrada se realiza mediante transporte pasivo (vía apoplástica) a bajas concentraciones de Cu, o mediante transporte activo (vía simplástica) a altas concentraciones de Cu.  
Fuente: elaboración propia

En consecuencia, la adición de quelantes a un suelo contaminado por metales, permite transformar en formas biodisponibles formas metálicas ligadas a materia orgánica, carbonatos y óxidos del suelo que no son biodisponibles en condiciones normales. Esto permite que las plantas acumuladoras sean capaces de extraer una fracción mayor de contaminante del suelo. Además, la adición de quelantes permite la rápida translocación de los metales, desde la raíz a la parte aérea de las plantas (do Nascimento et al., 2006). La fitoextracción que utiliza agentes quelantes de denomina *inducida*.

Cabe mencionar que se ha probado que incluso especies no acumuladoras pero tolerantes, y con amplia producción de biomasa, tienen potencial uso como fitoextractoras al aplicarse quelantes que aumentan la absorción de metales por las plantas. Esto se probó por ejemplo para *Paulownia tomentosa*, especie arbórea evaluada en suelos contaminados por Cd, Cu, Pb a los cuales se les adicionó quelantes de diverso origen (Doumet, 2008).

En general el sistema consiste en esperar que las plantas lleguen al estadio de mayor producción de biomasa y en ese momento se aplica el quelante y poco tiempo después de cosecha (generalmente un par de semanas) (Figura 16).



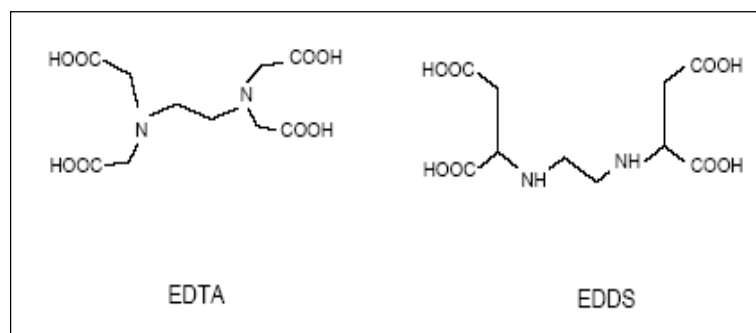
**Figura 16. Representación esquemática de un proceso de fitoextracción asistida por quelantes.**

Las líneas sólidas representan la concentración de metal en la biomasa. Las líneas punteadas representan la biomasa.  
Fuente: Salt et al., 1998

Entre los quelantes, el EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) (ver Figura 17) y sus derivados han sido los más estudiados. Las formas más utilizadas son la sal di sódica ( $\text{EDTA-Na}_2$ ), la sal di potásica ( $\text{EDTA-K}_2$ ) y la sal di ácida-di potásica ( $\text{EDTA-H}_2\text{K}_2$ ) (Cui et al., 2007; Vavasseur et al., 2014). El EDTA ha sido definido como el quelante más eficiente en aumentar la concentración de metales disponibles en el suelo y en los tejidos aéreos de las plantas. Sin embargo, la utilización del EDTA puede traer algunos inconvenientes, entre ellos la alta movilización de nutrientes del suelo (entre ellos Ca y Mg cuya pérdida reduce la permeabilidad del suelo), su toxicidad (EDTA y quelatos EDTA-metal) para los microorganismos del suelo y plantas sensibles, el aumento de la biodisponibilidad de metales (y con ello el riesgo de toxicidad para seres humanos) y finalmente, su persistencia en las matrices ambientales, lo que lo hace peligroso por la persistencia de los efectos antes mencionados. En general, los estudios realizados en fitoextracción con EDTA demuestran que la fracción de metales solubilizados mediante EDTA es mucho mayor que aquella absorbida por las plantas, lo que deja una fracción susceptible de ser lixiviada o causar daño a plantas, animales y seres humanos. La proporción de metales absorbidas y lixiviadas depende de la planta acumuladora utilizada (afinidad con el metal y sistema radicular), del quelante utilizado y de las características del suelo (Madrid et al., 2003).

Al aplicar este quelante al suelo, en las primeras 15 semanas se transforma (degrada) el 15-45% del quelante, el resto no se mineraliza sino hasta 45 semanas después<sup>7</sup> (Barona et al., 2000; do Nascimento et al., 2006; Evangelou et al., 2007).

<sup>7</sup> Se considera que un producto químico se mineraliza rápido cuando se mineraliza el 70% en 28 días



**Figura 17. Formula estructural del EDTA y EDDS**

Fuente: Fernández, 2005

La mayoría de los estudios realizados con quelantes se han realizados en suelos contaminados por plomo, utilizando EDTA o compuestos similares (HEDTA, DTPA<sup>8</sup>, CDTA<sup>9</sup>). Todos ellos han reportado aumentos de entre 8-250 veces en la extracción de Pb en distintas especies, luego de la aplicación del quelante (Tabla 2). En general, la eficiencia del EDTA es siempre mayor que la de sus derivados. En algunos casos, y dependiendo de la dosis de quelante y la concentración original de metal en el suelo, es posible que la biomasa de la planta disminuya al aumentar la toxicidad (Evangelou et al., 2007).

**Tabla 2. Concentración de Pb en distintas especies por aplicación de quelantes.**

Planta	quelante	Concentración de Pb en planta		Pb en suelo	Referencia
		Sin quelante	c/quelante		
		mg kg <sup>-1</sup> materia seca		mg kg <sup>-1</sup>	
Centeno	4 g EDTA kg <sup>-1</sup>	96	24.000	6.750	(Deram et al., 2000)
Pera	2 g HEDTA kg <sup>-1</sup>	90	10.600	2.450	(Huang, et al., 1997)
Maíz	2 g HEDTA kg <sup>-1</sup>	60	10.200	2.450	
Girasol	6 g CDTA kg <sup>-1</sup>	67	5.200	4.000	(Cooper et al., 1999)
Mostaza india	3 g EDTA kg <sup>-1</sup>	313	5.000	600	(Blaylock, et al., 1997)
Maíz	6 g CDTA kg <sup>-1</sup>	36	2.600	4.000	(Cooper, et al., 1999)
Maíz	0.4 g EDTA kg <sup>-1</sup>	90	500	2.500	(Wu, J. et al., 1999)
Chépica mayor ( <i>Agrostis gigantea</i> )	6 g CDTA kg <sup>-1</sup>	25	3.000	4.000	(Cooper, et al., 1999)
Col	1 g EDTA kg <sup>-1</sup>	125	5.010	10.600	(Shen et al., 2002)

En todos los casos se evidencia un aumento significativo en la acumulación de Pb en las plantas luego de la aplicación del quelante.

<sup>8</sup> Ácido dietilenotriaminopentaacético

<sup>9</sup> Ácido 1,2-ciclohexilenodinitrilotetraacético

La gran persistencia del EDTA y sus derivados, están llevando a considerar la utilización de nuevos agentes quelantes, con una degradabilidad *a priori* mayor. Entre ellos se encuentran:

- El EDDS (ácido etilendiaminodisuccínico) (Figura 17) es producido naturalmente por microorganismos aunque se usan la forma sintetizada. Es un quelante eficaz, pero con una velocidad de movilización de los metales menor que la del EDTA. En general, se consiguen eficacias de entre el 25 al 90% comparado con EDTA, aunque algunos estudios indican eficiencias superiores del EDDS para Cu, Ni y Zn en algunas especies, La principal ventaja de este quelante es que es rápidamente biodegradable (2-4 días) y no presenta toxicidad para microorganismos (Evangelou et al., 2007; Epelde et al., 2008).

- El NTA (ácido nitrilotriacético) también ha sido probado como un quelante efectivo para extraer metales pesados (aumenta hasta 37 veces la concentración de metales en la biomasa aérea) y es rápidamente biodegradable. No se conoce su tasa de degradación pero estudios indican que la concentración de metales en el suelo vuelve a los niveles del control después de cuatro semanas de aplicado. Este quelante no se recomienda para operaciones de descontaminación por ser un posible carcinógeno.

- Los ácidos orgánicos de bajo peso molecular (LMWOA), como el ácido cítrico y oxálico, también son rápidamente biodegradables. Su adición al suelo disminuye el pH entre 0,5 y 1 unidad. La efectividad de estos ácidos es muy dependiente de la planta. Sin embargo, en general tienen efectividades menores al EDTA. Su degradación es rápida, volviendo los suelos a contener concentraciones de metales disponibles similares a las iniciales así como el pH inicial, en dos semanas (do Nascimento et al., 2006; Evangelou et al., 2007). Otro ácido, el poliaspártico (PASP) ha sido evaluado. A pesar de que produce un aumento de la concentración de metales en las raíces, su efecto en el aumento de la extracción no es comparativamente significativo (Lingua et al., 2014).

- Los ácidos húmicos también se han probado como agentes quelantes pero sus efectos han sido menores a los obtenidos con otros quelantes degradables y con EDTA. Sin embargo, su adición produce efectos beneficiosos sobre la calidad del suelo y el crecimiento de la planta, por lo que su uso es recomendado en casos de contaminación leve (Lee & Sung, 2014).

- El MGDA- $\text{Na}_3$ , ácido metilglicin diacético o ácido  $\alpha$ -alanindiacético ( $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{NO}_6$ ) (ver Figura 18), comercializado por BASF con el nombre de **Trilon M Liquid** (solución) es uno de los quelantes recientemente postulados como sustituto del EDTA por su rápida degradabilidad (90-100% en 8-14 días) según la OCDE. Además, forma complejos muy estables con el cobre (constante de estabilidad más alta que con cualquier otro metal) manteniéndose estable en un rango amplio de pH (2-13). Ensayos de fitoextracción inducida comparando EDTA y MGDA en el mejoramiento de la extracción de metales, indicaron que el EDTA produce las mayores concentraciones de Cr en las plantas testadas (trigo y maíz). Sin embargo, el MGDA produjo las mayores biomásas, ya que el EDTA provocó una fuerte disminución de la producción de biomasa. En consecuencia, al medir la disminución porcentual de Cr en el suelo, los resultados para EDTA y MGDA son muy similares (26-33% de reducción) (Fernández, 2005). Otro ensayo con Pb y Zn, comparando MGDA y EDDS 4 y 8 mmol, reveló que ambos quelantes aumentaban entre 27 y 28 veces la concentración de Pb en hojas, sin haber diferencias significativas en el efecto de uno u otro quelante. Se ha demostrado que la efectividad del MGDA es

mayor en suelos con alta capacidad de intercambio catiónico (Cao et al., 2007).

El uso de quelantes rápidamente degradables para la fitoextracción aminora considerablemente los problemas de lixiviación de nutrientes, contaminación de napas subterráneas con metales lixiviados, fitotoxicidad y entrada a la cadena trófica.

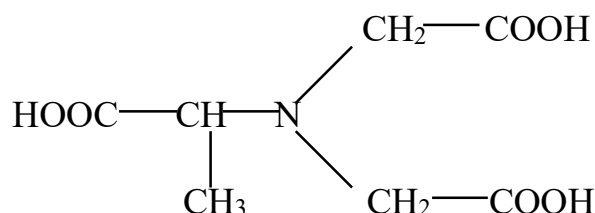


Figura 18. Formula estructural del MGDA-Na<sub>3</sub>

Fuente: BASF, 2007

### Mejoramiento genético de plantas acumuladoras

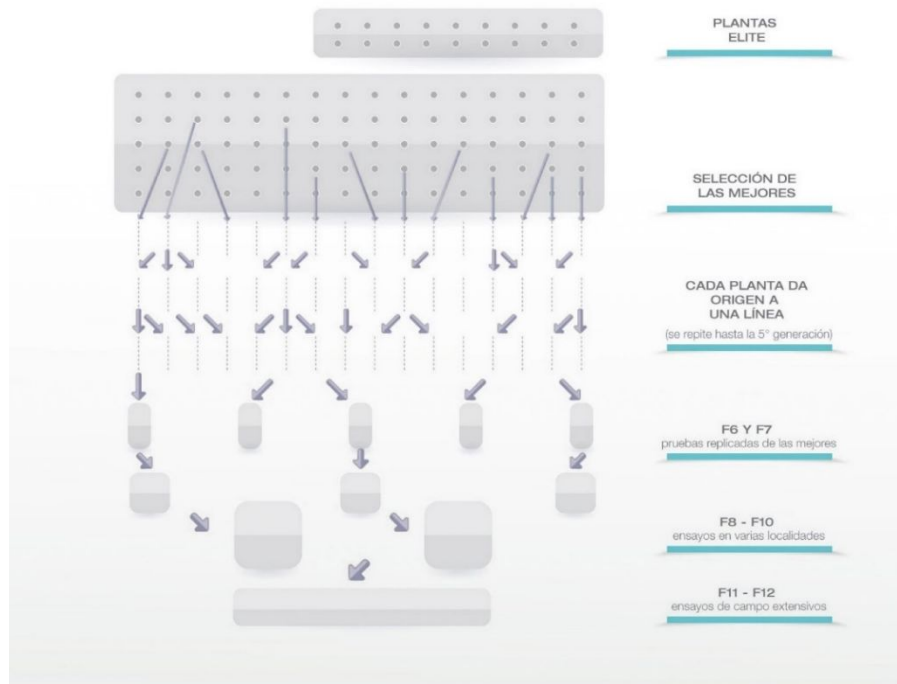
La capacidad de extraer y acumular metales dentro de una misma especie es muy variable, como también lo es dentro de una misma población o ecotipo. Por ejemplo, dentro de la misma especie, *Allysum serpyllifolium* subsp. *Lusitanicum*, la concentración de Ni en hojas oscila entre 1.800 y 31.200 mg kg<sup>-1</sup> (Kidds et al., 2007). En individuos del mismo género, *Allysum murale* y *A. corsicum*, respectivamente, las concentraciones medias de Ni en hoja oscilan entre 4.200 y 20.400 mg kg<sup>-1</sup> (Li, et al., 2003). También dentro de especies acumuladoras, la producción de biomasa varía en rangos amplios. Es por esta variabilidad que ciertos autores recomiendan explotar la diversidad de estas especies a través de la selección tradicional de plantas para conseguir hiperacumuladoras mejoradas que presenten una mayor producción de biomasa y capacidad de acumulación metálica, lo que permitiría extraer anualmente una mayor cantidad de metales en relación a las plantas silvestres (Kidds, et al., 2007; Schwartz et al., 2006; Cabello, 2015). Este proceso se denomina selección fenotípica<sup>10</sup> de individuos (Baker & Smith, 2002; Chaney, et al., 2000). La selección es uno de los procedimientos de mejoramiento más antiguos para lograr mejoramientos genéticos (Milton, 1974), por lo que ha sido utilizada para mejorar muchos cultivos actuales. Esencialmente, la selección es un proceso natural o artificial, mediante el cual se separan plantas individuales o grupos de las mismas, con características deseables, dentro de poblaciones mezcladas (Milton, 1974). Sin embargo, se reconoce que no se ha realizado mucho esfuerzo en investigación en este tipo de mejoramiento, en el ámbito de la fitoextracción (Bhargava et al., 2012). En las últimas décadas el foco en el mejoramiento ha estado en las técnicas de ingeniería genética e hibridación somática, como se menciona más adelante.

En el caso de especies autofecundadas, como es el caso de *O. picensis* en el área de estudio, es posible aplicar la *selección masal* y la *selección de líneas puras* (o selección genealógica). La selección de líneas puras, que produce variedades más uniformes que la selección masal, parte de una población inicial lo más diversa posible. Posteriormente, se escogen los fenotipos más sobresalientes, recolectando sus semillas. Las semillas de las plantas sobresalientes se siembran en surcos

<sup>10</sup> Esto se refiere a una selección en base a los rasgos físicos, al contrario de la selección genética que se basa en el análisis directo de los genes. El fenotipo se define como la expresión del genotipo

individuales. Estos surcos son evaluados, escogiéndose aquellos que presenten los mejores fenotipos. Nuevamente se colecta la semilla por surco (Figura 19). La semilla obtenida finalmente de un surco (o varios) constituye una (o varias) líneas puras que posteriormente se convertirá en una variedad uniforme (Milton, 1974).

Esto supone que la población inicial es prácticamente homocigota, hecho que no ocurre muy a menudo en la naturaleza. En caso de haber un porcentaje de heterocigosis, será necesario autofecundar los individuos sobresalientes de la primera selección, y continuar escogiendo genotipos por individuos, hasta que se alcance la homocigocis.



**Figura 19. Proceso de selección en líneas puras.**

Fuente: Asociación de Semilleros Argentinos, 2015

Para especies dioicas, como por ejemplo *Baccharis linearis*, este proceso sería más complicado, pues requeriría la encapsulación y la fecundación cruzada manual de individuos (macho y hembra) de alta extracción de metales.

Actualmente la mayoría de las selecciones se realiza con la ayuda de marcadores moleculares para acelerar el proceso (Samac & Tesfaye, 2003). En los últimos años se ha desarrollado la técnica de hibridaciones somaclonales<sup>11</sup> para mejorar las características de acumulación y también se ha utilizado la ingeniería genética, que ofrece la posibilidad de combinar genes de taxas sexualmente incompatibles, añadiendo genes de hiperacumulación a plantas con alta producción de biomasa, o viceversa. Para realizar este tipo de prácticas se deben realizar análisis de riesgo previos, y utilizar genes de especies que no tengan parientes silvestres compatibles, de especies que produzcan machos infértiles, debiendo cosecharse las plantas antes de florecer (Bhargava et al., 2012).

<sup>11</sup> Fusión natural o inducida (in vitro) de células o protoplastos somáticos de dos progenitores diferentes genéticamente. La hibridación somaclonal aprovecha la variación fenotípica que se da en tejidos de plantas que crecen en cultivos in vitro, que puede ser producto de variaciones epigenéticas (procesos que afectan la expresión genética pero no las secuencias de ADN) producidas por el estrés del cultivo mismo o variaciones genéticas verdaderas (mutaciones, muy poco frecuente).



Pocos autores han reportado avances en fitorremediación en base a selección fenotípica; entre ellos se cuenta a Chaney *et al.* (2000), quienes con selección fenotípica consiguieron, en las especies *Allysum murale* y *Allysum corsicum*, acumulaciones de hasta 22.000 mg/kg (más del máximo observado en especies silvestres).

Es importante conocer, previo a un proceso de selección, la heredabilidad<sup>12</sup> del carácter que se desea mejorar, ya que si éste es influenciado en mayor proporción por el ambiente, el mejoramiento será más lento y menos eficaz (Pollard *et al.*, 2002). Si bien no son muy frecuentes, existen investigaciones que han medido la heredabilidad con fines de cruce y selección ya sea tradicional o asistida por marcadores y en la identificación de genes responsables de acumulación de metales (Willems *et al.*, 2010; Meyer *et al.*, 2010).

Existen pocos estudios al respecto, por lo que no es difícil generalizar si la heredabilidad es alta o baja en las características de acumulación; probablemente depende de la especie y el elemento acumulado. Según algunos autores, heredabilidades mayores a 0,25 para la acumulación se consideran adecuadas para un proceso de selección fenotípica (Macnair, 1993).

#### Inoculación de micorrizas

Las micorrizas constituyen la asociación mutualista más común entre microorganismos y plantas superiores, siendo de mucha importancia para la nutrición del huésped (principalmente para la adquisición de P por la planta), sobre todo en suelos bajos en nutrientes, aumentando la biomasa en relación a plantas no colonizadas y mejorando la estructura del suelo por la acción de las hifas (Smith *et al.*, 2011).

Las micorrizas se dividen en dos grandes grupos. Las *ectomicorrizas*, en las que el micelio invade la raíz de la planta sin entrar en el interior de las células y las *endomycorrizas* o *micorrizas arbusculares*, en las cuales el micelio invade la raíz, inicialmente a nivel intercelular, pero luego penetra en el interior de las células radicales.

Ciertas especies y ecotipos de estas micorrizas son capaces de crecer en suelos metalíferos, como los afectados por actividades mineras o suelos naturalmente metalíferos, gracias a una selección y adaptación gradual de las comunidades a través del tiempo (Urban *et al.*, 2008; Colpaert, 2008). Más allá de eso, la presencia de micorrizas puede ser útil para tolerar altas concentraciones de metales en el suelo en las plantas huéspedes que presentan poca tolerancia, ya que pueden actuar como barreras para dichos contaminantes. Tal es el caso de las especies de hongos *Hymenoscyphus ericae*, *Suillus bovinus*, *Glomus mosseae* y *G. intraradices* (Miransari, 2010; Sharples *et al.*, 2002; Wong *et al.*, 2007). En el caso de las ectomicorrizas, es probable que la explicación del efecto de barrera sea que los metales se unan a moléculas orgánicas presentes en las paredes de las células micorrízicas (citrato, ácido oxálico), generando así una acumulación de los metales en las paredes celulares y evitando así su ingreso a la planta. También la glomalina, una proteína secretada por las células micorrízicas, es capaz de ligarse a los metales (Bellion *et al.*, 2006). En el caso de las endomicorrizas, estas absorben altas cantidades de metal en sus micelios al interior de la raíz, detoxificándolos mediante metalotioneínas, glutatión y, en algunos casos apartados, grupos sulfhidrilos o

<sup>12</sup> Cociente entre la varianza de un carácter debida a la genética ( $V_G$ ) y la varianza total del carácter (varianza genética más ambiental,  $V_P$ ) evaluada en una especie. Se representa como  $h^2=V_G/V_P$  y su valor está entre 0 y 1, mientras más cercano a uno la heredabilidad es mejor (Macnair, M., 1993)

fitoquelatinas (Bellion et al., 2006; Miransari, 2011). Todas estas interacciones son beneficiosas para la fitoestabilización.

En menor proporción, se han reportado micorrizas que aumentan la acumulación de metales, beneficiando así la fitoextracción. Al mejorar la nutrición de la planta (ya que mejoran la absorción de P), aumentando su biomasa, se genera un aumento de la extracción total del metal (Gaur & Adholeya, 2004; Prasad et al., 2006). Otros autores indican que el aumento en la fitoextracción podría estar relacionado con el hecho de que, en ciertas plantas, las raíces micorrizadas son capaces de explorar más volumen de suelo en relación a las mismas plantas no micorrizadas, siendo capaces así de extraer más contaminantes del suelo. Por ejemplo, Fayuan et al. (2005) inocularon *Elsholtzia splendens* con *Glomus caledonium* (micorriza nativa no tolerante) y con una mezcla de *Gigaspora margarita*, *Gigaspora decipens*, *Scutellospora gilmori*, *Acaulospora* spp. y *Glomus* spp. (micorrizas tolerantes obtenidas de una mina de Cu abandonada). Los resultados revelaron que en las plantas inoculadas con la mezcla de micorrizas se encontraron las mayores concentraciones de P, Zn, Cu y Pb (en relación a control no inoculado), mientras que la inoculación solamente con *G. caledonium* disminuyó la concentración de Pb y Zn y no varió la concentración de Cu y Cd en relación al control. Asimismo Trotta et al (2006) inocularon micorrizas (*Glomus margarita* y *Glomus mosseae*) en *Pteris Vittata* (hiperacumuladora de As), aumentando la producción de biomasa, reduciendo la concentración de As en las raíces y aumentando la concentración en la biomasa aérea.

Varios autores concluyen que el efecto de las micorrizas (protección o aumento de la extracción) depende de la interacción entre la especie micorrízica utilizada, la planta hiperacumuladora utilizada, del metal extraído, las concentraciones iniciales de metales y las características físico-químicas del suelo (Fayuan, et al., 2005; Vogel-Mikus et al., 2006).

La prospección de especies de micorrizas en sitios metalíferos naturales ha sido extensamente reportada. Por ejemplo, un estudio realizado en un sitio naturalmente enriquecido con níquel en Sudáfrica, comprobó la presencia de micorrizas arbusculares (*Glaspula* sp y *Glomus tenue*) en una serie de especies del género *Asteraceae*, entre ellas *Berkheya codii* que acumula un 3,8% de Ni. Estas micorrizas fueron inoculadas en la planta en condiciones controladas, obteniéndose mayor producción de biomasa y aproximadamente el doble de extracción en comparación al control no inoculado (Turnau & Mesjasz-Przybylowicz, 2003). Otro caso en el que se han encontrado micorrizas en hiperacumuladoras es en la especie *Thlaspi praecox*, hiperacumuladora de Ni y Pb, encontrada en las cercanías de una mina de plomo en Slovenia, detectándose las especies *Glomus fasciculatum* y en menor proporción *Glomus mosseae* y *Glomus etunicatum*. Sin embargo, al realizar ensayos de invernadero, se demostró que la inoculación con estas micorrizas provocó una disminución de la extracción de Pb y Cd en la planta, en relación a un control no inoculado (Vogel-Mikus et al., 2005; 2006). En Chile, y específicamente en la zona contaminada de Puchuncaví, Cornejo et al. (2008), encontraron micorrizas (*Acaulospora* sp.) asociadas principalmente a especies *Polypogon viridis* y *Oenothera affinis* (luego clasificada como *O. picensis*). Posteriormente Maier demostró que las cepas nativas de micorrizas aliviaban el estrés oxidativo en *O. picensis* expuesta a altas concentraciones de Cu en el suelo (Meier et al., 2011).

Entre las especies de micorrizas tolerantes a altas concentraciones de metales en el suelo el género *Glomus* es el que se encuentra con más frecuencia en condiciones naturales en diferentes especies vegetales y para gran variedad de metales (Miransari 2011; Azcón et al., 2009; Turnau et al., 2001).

#### 1.2.4. Evolución y ecología de la tolerancia a los metales

La evolución puede ser considerada desde dos perspectivas, la microevolución y la macroevolución. La microevolución involucra cambios debidos a la selección natural, que ocurren dentro de una especie, mientras que la macroevolución ocurre entre especies. Adicionalmente la microevolución toma lugar rápidamente debido a la fuerza de la presión de selección y de esta forma no se requieren largos períodos de tiempo para poder observar cambios. La tolerancia a los metales es uno de los mejores ejemplos de la microevolución causada por actividades antropogénicas. La presencia de metales en el ambiente constituye una fuerte presión de selección, que causa cambios evolucionarios en organismos, manifestados como tolerancia a metales. Esta microevolución puede ocurrir en escala de cientos de años e incluso décadas y da origen a las llamadas especies “metalófitas” (Bondada & Ma, 2003).

Cuando la evolución ha tomado mucho tiempo, las especies sufren cambios morfológicos y genéticos que conducen a una nueva especie, que solo está presente en sitios contaminados o naturalmente metalíferos (endémicas); los miembros de esta nueva especie pasan a llamarse metalófitas verdaderas, especies serpentinícolas o serpentinícolas verdaderas, mientras que aquellas poblaciones que han evolucionado en menos tiempo creándose solo un nuevo ecotipo de especies comunes, se denominan pseudometalófitas (o metalófitas facultativas o serpentino-facultativas) (Whiting et al., 2004; Kazaku et al., 2008), siendo especies con ecotipos presentes en suelos metalíferos y no metalíferos. A su vez, dentro de las metalófitas verdaderas, existen dos grupos:

- a) las especies de metalófitas “reducidas” que corresponden a aquellas que en algún momento ocuparon un área mayor, llegando a colonizar las cercanías del área serpentina. Su progenie fue seleccionándose con el tiempo pudiendo sobrevivir en el área serpentina sólo aquellos individuos con características especiales, los cuales finalmente formaron una nueva especie, distinta de la original y reducida a un área de menor tamaño;
- b) si alguna de las semillas de esta nueva especie llegase a otro afloramiento de suelo serpentino y formara otro ecotipo, formando diferentes “islas”, entonces hablamos de una especie “insular” (Kazaku et al., 2008).

Dentro de las pseudometalófitas también podemos encontrar grupos:

- i. “pseudometalófitas selectivas” que están presente mayormente, y con ecotipos de mayor vigor en los suelos serpentinos.
- ii. “pseudometalófitas indiferentes” que crecen en las misma proporción y con el mismo vigor en ambos tipos de suelos
- iii. “pseudometalófitas accidentales” correspondientes a plantas herbáceas que crecen con muy poco vigor en suelos metalíferos.

Entre las metalófitas (verdaderas o pseudometalófitas), otra distinción es en base a sus mecanismos de tolerancia (exclusión y o acumulación). Las plantas excluyentes restringen el transporte de metales a la biomasa aérea o impiden que los metales entren a la raíz (detalles en sección 1.2.3.1). En un nivel intermedio entre acumuladoras y excluyentes se encuentran las especies “indicadoras”, que se caracterizan por reflejar en su biomasa aérea, la concentración de metales existente en el suelo (aumenta proporcionalmente), teniendo un radio de concentración de metales en biomasa aérea/raíz de aproximadamente 1 (Kazakou et al., 2008). Al contrario de las excluyentes, las acumuladoras tienen la habilidad de translocar los metales a su biomasa aérea sin sufrir síntomas de toxicidad. Parece ser que la acumulación es una vía de tolerancia desarrollada en plantas que crecen en ambientes más contaminados que aquellas plantas que poseen tolerancia por

exclusión. Finalmente, el caso más drástico de cambios morfológicos y genéticos, originados por la presión de la selección en sitios metalíferos, son las hiperacumuladoras, que han desarrollado una forma de tolerancia por acumulación, que le permite concentrar hasta un 2% de su peso seco en metales (Whiting, et al., 2004). Las especies hiperacumuladoras suelen encontrarse en sitios naturalmente metalíferos, es decir en afloraciones de mineral ya que en estos sitios las especies se han sometido por siglos a la presión de selección natural (por ej., Chehregani et al., 2009; Wang et al., 2009). Considerando la clasificación anterior, entre las hiperacumuladoras existen hiperacumuladoras endémicas de sitios metalíferos (aproximadamente 85-90% de las hiperacumuladoras conocidas) e hiperacumuladoras facultativas (Pollard et al., 2014).

Los individuos tolerantes cuando crecen en suelos normales son generalmente competitivamente inferiores a los individuos no tolerantes (menor biomasa, sistema radical reducido, etc.). Este patrón parece ser una regla que indica que la tolerancia a los metales involucra un costo fisiológico (Bondada & Ma, 2003; Kazakou et al., 2008).

### 1.2.5. Ventajas y desventajas de la fitoextracción v/s fitoestabilización

En la Tabla 3 se resumen, en base a la información recopilada, las ventajas y desventajas de la fitoextracción y fitoestabilización

**Tabla 3. Ventajas y desventajas de la fitoextracción v/s fitoestabilización**

	<b>Fitoextracción</b>	<b>Fitoestabilización</b>
<b>Ventajas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Remueve definitivamente los contaminantes del suelo</li> <li>Permite usos posteriores</li> <li>Aplicable a gran cantidad de metales.</li> <li>• Los desechos tóxicos generados son mínimos.</li> <li>• El metal podría ser recuperado desde la biomasa cosechada.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La revegetación disminuye la erosión hídrica y eólica y mejora las propiedades del suelo.</li> <li>• No requiere disponer de los contaminantes removidos pues estos permanecen en el suelo.</li> <li>• Es rápido comparado a la fitoextracción. El proceso puede lograrse en meses. Si se usa Quimiofitoestabilización el tiempo es aún menor (semanas).</li> </ul>
<b>Desventajas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proceso lento</li> <li>• Metales pueden entrar a la cadena trófica si no se usan las plantas adecuadas o no se tienen las precauciones adecuadas</li> <li>• Las plantas hiperacumuladoras son muy escasas (1% de las Angiospermas)</li> <li>• La baja biodisponibilidad de los metales en el suelo limita la extracción</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los contaminantes permanecen en el sitio</li> <li>• La vegetación requiere monitoreo para evaluar su correcto desarrollo</li> <li>• No se puede utilizar el suelo con otros fines pues está cubierto por las plantas fitoestabilizadoras</li> <li>• La Quimiofitoestabilización requiere también monitoreo del suelo para evaluar si los contaminantes siguen inmovilizados</li> </ul>

Fuente: Elaboración propia en base a Wana & Okieimen, 2011.

### 1.3. El mercado de la bio y fitorremediación de suelos v/s el mercado de la remediación tradicional en el mundo y Chile

#### 1.3.1 El mercado actual de las técnicas de remediación tradicional de suelos

Actualmente existe una amplia gama de técnicas tradicionales de remediación, de carácter físico-químico, entre las que se cuentan técnicas *in situ* como la vitrificación (aplicación de altas temperaturas), el lavado de suelos (aplicación de flujo con solventes), electrocinética (aplicación de electricidad), confinamiento (barreras físicas) y la solidificación (mezcla con agente puzolánico) y técnicas *ex situ* como la remoción y confinamiento, el lavado *ex situ*, separación física (por gravedad) y vitrificación *ex situ*. Todas estas técnicas tienen una alta eficiencia en la remoción, pero altos costos (U\$50-2500/m<sup>3</sup>), además que alteran, generalmente en forma irreversible las características del suelo (más aún las técnicas *ex situ*).

Hasta el año 2009, el mercado de la remediación de suelos se estimaba en un monto de US\$30–35 billones a nivel mundial (Singh et al, 2009).

Estados Unidos, Europa occidental, Japón, Australia y Canadá son países donde la remediación de suelos constituye un negocio de mercado creciente. Latinoamérica y Asia se consideran mercados emergentes. En todos estos países las técnicas utilizadas son principalmente las tradicionales (Singh et al, 2009).

- Estados Unidos es el líder en el negocio de la remediación. Su gran desarrollo se basó en la necesidad de este servicio debido a los aproximadamente 450.000 emplazamientos contaminados existentes en el país (con contaminantes orgánicos e inorgánicos). Actualmente la oferta de servicios en USA cubre 1/3 de la demanda global por servicios de remediación de suelos (U\$ 12 billones/año).
- Europa occidental tiene en conjunto 600.000 sitios contaminados. El mercado de esta área se estima en U\$ 7.5 billones/año (Meuser, 2012)
- Japón cuenta con 500.000 sitios contaminados. El mercado de la remediación en este país genera U\$ 1,2 billones anuales.
- En Australia hay 160.000 sitios contaminados sin embargo su mercado actual o potencial no ha sido evaluado.
- En Canadá la remediación de suelos es un negocio que ha crecido un 26% desde el 2000, debido a la alta cantidad de suelos contaminados existentes (30.000 considerando contaminantes orgánicos e inorgánicos) (Industry Canadá, 2005).

En los países citados, existe una variada gama de empresas dedicadas al rubro de la remediación de suelos, algunas de ellas multinacionales, con vasta experiencia en el tema, las que se dedican tanto a remediar contaminación orgánica como inorgánica, aunque la primera es en general más demandada. Por ejemplo, la empresa multinacional Biosoil (Alemania-Chile), ha desarrollado más de 200 proyectos de remediación de suelos (BioSoil, 2008). La empresa The Reynold Group, de Tustin (USA), ha remediado más de 500 sitios contaminados, mediante diversas técnicas, varios de ellos contaminados por cromo o mercurio (The Reynold Group, 2009). Dowa Eco Systems Co., Ltda. es una empresa Japonesa, subsidiaria de una empresa minera (Dowa Eco System Co., 2008) que se dedica desde el 2006 al reciclaje de metales (recuperación), manejo de desechos industriales y remediación de suelos (contaminantes orgánicos y metales) mediante lavado de suelos, desorción térmica o barreras permeables. En España, la empresa líder es SITA SPA Ibérica, ofrece tratamientos *in situ*, *on site* y *ex - situ* (SITA SPE Ibérica, 2014). En Escocia,

la empresa Soilutions ofrece servicios excavación, oxidación química, vitrificación, entre otros, con más de 10 años en el mercado (Soilutions, 2015).

En Latinoamérica, existen países avanzados en la remediación de suelos, como México (85 empresas de remediación); sin embargo, solamente ofrecen remediación de compuestos orgánicos (por ejemplo Estrucplan, 2015; Adferi, 2011).

En el Anexo III, Tabla 1, se entrega un listado de algunas grandes empresas de remediación de suelos en el mundo y sus características.

En Chile, las experiencias de remediación de metales han sido, en su mayoría experimentales, a nivel académico. Las Universidades, principalmente en las ramas ingenieriles (ingeniería en procesos, bioquímicos, etc.) se han interesado por las alternativas tradicionales de remediación a través de proyectos y tesis de pre y postgrado, por ejemplo, la Universidad de Chile, la Universidad Santa María y Universidad de Concepción (Archibold, 2010; Alcaíno, 2012).

Por otro lado, algunas empresas chilenas que ofrecen servicios ambientales prestan servicios de remediación de suelos; sin embargo, la información disponible indica que no se han desarrollado proyectos de este tipo hasta la actualidad. Por ejemplo, la empresa SGS, especialista en recursos hídricos y terrestres ofrece variados servicios de remediación, como barreras reactivas permeables, extracción e inyección de vapores del suelo, "bombeo y tratamiento", entre otras (SGS, 2015).

En general, los principales clientes de las empresas de remediación son las grandes empresas privadas y públicas, municipios y, en menor escala, agricultores (Industry Canadá, 2005). Por ejemplo, en Estados Unidos, la Environmental Protection Agency ha gastado más de 20 mil millones de dólares en remediar antiguos vertederos de residuos peligrosos, para lo cual se creó una normativa especial denominada CERCLA (Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act) comúnmente conocida como "superfondo" creado a partir de los impuestos a las industrias petroleras y químicas para costear la remediación de los sitios antes mencionados (Environmental Protection Agency, 2010).

### 1.3.2 El mercado de la biorremediación microbiana de suelos con metales en el mundo y en Chile.

Se estima que el mercado de la biorremediación (en general, de orgánicos e inorgánicos) en Estados Unidos alcanzaba los 200 billones de dólares al 2005 (Lloyd, 2002), justo antes de la crisis económica. Estudios de mercado indican que el mercado más grande es el de USA, lo que se ha favorecido por las estrictas normas de protección ambiental existentes. El segundo mercado más promisorio es Europa. Se espera que, dada la masiva imposición de normativas ambientales a nivel mundial, los mercados de Latinoamérica y el este de Asia se desarrollen rápidamente en los próximos años (ResearchMoz 2014). La mayor parte de la información se orienta a técnicas para contaminantes orgánicos.

No existe información disponible sobre el mercado de la biorremediación específicamente para metales en el suelo. Existen también extensos estudios de mercado, realizados con miras a servir de base a la creación y desarrollo de empresas del mismo rubro (ResearchMoz 2014). Sin embargo, el costo de adquirir estos estudios de mercado es muy elevado (por ejemplo: U\$ 3.500 por el reporte "Soil Remediation Technology", realizado por la compañía Market Research en USA; U\$4795 por el estudio "Bioremediation Technologies And Services Market - Global

Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends And Forecast, 2013 – 2019”).

En Chile existen algunas empresas que prestan servicios de biorremediación, pero siempre orientado a compuestos orgánicos, como Silob y Biosigma (Biosigma, 2015; Silob Chile, 2015).

En el Anexo III, Tabla 1 se entrega un listado de empresas relacionadas a servicios de remediación de suelos, entre ellas, biorremediación, pero solo empresas útiles solo para contaminantes orgánicos.

### 1.3.3 El mercado de la fitorremediación en el mundo

El principal país proveedor de servicios relacionados a la fitorremediación es USA, donde existen varias docenas de compañías. En general, todas ellas se caracterizan por estar dirigidas por científicos universitarios. Las más destacadas en el rubro son aquellas en las que la fitorremediación es la principal técnica ofrecida como remediación de suelos. La primera empresa creada fue PhytoTech (Nueva Jersey, USA), fundada a partir del laboratorio de Lila Raskyn en la Universidad de Rutgers. Esta compañía se especializa en metales y radionúclidos y ha desarrollado varias experiencias de campo. Otra compañía importante es PhytoWorks, Inc. (Gladwyne, Pensilvania, USA) la cual se concentra en la remediación de contaminantes orgánicos y de mercurio, desarrollando plantas transgénicas capaces de volatilizar este elemento. También Sand-Creek (Wisconsin, USA), creada en 1995, se dedica exclusivamente a la fitorremediación y a sus diferentes técnicas (fitosecustración, fitoestabilización, rizofiltración).

Existen también compañías que, entre otras técnicas de remediación, han incorporado la fitorremediación como servicio (Ej.: Eadha en Escocia) y compañías que se dedican a otros servicios (muestreos, reforestación, fertilización) y que han incluido la fitorremediación como un servicio secundario (Ej.: Tea Inc. en Baton Rouge, Luisiana, USA).

En el Anexo III, Tabla 1 se listan las empresas antes mencionadas y otras empresas que prestan servicios de fitorremediación.

El mercado de la fitorremediación a nivel mundial (incluyendo contaminantes orgánicos e inorgánicos) fue estimado por Glass (1999) en 33-54 billones de dólares al año. El mercado específico para la remediación de suelos con metales se estimó en U\$ 4.5-6 billones en el año 1999. Además, el mercado en USA se estimó en U\$235-400 millones al año para el año 2005. Sin embargo, estas predicciones no se han cumplido, al menos en la década 2000-2010, lo que puede atribuirse a las limitaciones de la técnica, especialmente de la fitoextracción, como el tiempo para demostrar efectos (períodos que pueden alcanzar décadas, lo que no armoniza con los períodos en los que los políticos programan sus mandatos), el hecho de que solo remedia la capa superior de suelo, el que las plantas acumuladoras podrían ser consumidas por animales pasando a la cadena trófica (Jeong et al., 2015) (aunque en otros casos este hecho sea positivo, como ocurre con el ganado vacuno en áreas deficitarias en selenio), las dificultades para encontrar plantas hiperacumuladoras, y el hecho de que la fitoextracción solo actúa sobre la fracción soluble (estando las normativas hechas en base a la concentración total o a la extractable con ácidos fuertes). Todas estas limitaciones han hecho que la técnica no tenga el éxito esperado (Evangelou & Deram, 2014). Las soluciones existentes para estas limitaciones, por ejemplo, el uso de quelantes, el mejoramiento genético, las estrategias para evadir el acercamiento de fauna a las plantas hiperacumuladoras

(ruido, especies repelentes), aún están en estudio, por lo que no han logrado remontar la baja del mercado de esta técnica (Stephenson & Black, 2014).

Más recientemente y con el objeto de consolidar y aumentar la aplicación de estrategias de fitorremediación, se desarrolló la “dendrorremediación” entendida como la fitoestabilización con árboles de raíces profundas que evitan la lixiviación de metales y orgánicos y que también pueden proveer de un bosque explotable en términos forestales. También la recuperación de metales a partir de plantas acumuladoras, provee una opción de aumentar las ganancias (Stephenson, 2014). Y por último la utilización de la biomasa para producción de biogás (Vigil et al., 2015).

Por otro lado, agencias como la USEPA o Departamentos como la Armada o el Ejército del Aire han contribuido, con sus inversiones y casos de éxito, a difundir la fitorremediación de suelos y aguas subterráneas (U.S. Environmental Protection Agency, 2011).

La Unión Europea ha desarrollado bastante bien el mercado de la fitorremediación, estimando su mercado en U\$ 2-4 billones/año, con excelentes oportunidades de seguir creciendo rápidamente (Glass, 1999).

Fuera de USA, Australia, Canadá y Japón han desarrollado también el mercado de la fitorremediación, aunque en una etapa mucho más atrasada que en USA. En estos países en general se ofrece la fitorremediación como una alternativa más a los otros servicios de remediación de suelos (Glass, 1999).

En Chile solo la empresa Nordic Ambiental ofrece servicios de fitorremediación, aunque hasta el momento no se ha adjudicado ningún proyecto de este tipo. También existe la empresa Vetiver Chile, empresa que en base a las propiedades de la especie *Crhysopon zizanoides* (alto desarrollo de raíces, resistencia a la sequía y a suelos anegados, absorción de agua, alta producción de biomasa aérea, reproducción por estolones) ofrece servicios de estabilización de obras viales, prevención de aluviones y fitoestabilización de relaves y suelos (Vetiver, 2015). Hasta el año 2012, la entidad que llevaba la delantera en proyectos de fitorremediación, específicamente de fitoestabilización, era el CIMM, Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM, corporación de derecho privado), específicamente su área de Cobre y Medio Ambiente (Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, 2008). Los proyectos desarrollados por esta corporación se discuten en el próximo capítulo. Este centro cerró el año 2012, siendo vendidas sus instalaciones y empresas comerciales filiales, en un proceso que aún no concluye y aún no queda clarificada. El resto de las experiencias nacionales en el rubro corresponden a ensayos o proyectos universitarios a pequeña escala.

#### **1.4. Ventajas y desventajas de la fitorremediación en comparación a técnicas tradicionales de remediación y biorremediación microbiana**

En la Tabla 4 se comparan, en base a la información recopilada, los principales grupos de técnicas de remediación de suelos contaminados, en términos globales.



Tabla 4. Ventajas y desventajas de técnicas tradicionales v/s bio y fitorremediación

Parámetro	Técnicas tradicionales	Biorremediación microbiana	Fitorremediación
<b>Alteración del suelo y usos posteriores del suelo</b>	En general no permiten usos posteriores agrícolas por la alta alteración del suelo (en el caso de la vitrificación ni siquiera puede usarse como suelo industrial ya que se forma un cristal)	En general permite usos agrícolas posteriores, solo tiene impacto leve físicamente (si se realiza in situ). La excavación altera las propiedades físicas gravemente. En algunos casos se deben agregar sustancias para ajustar pH, o suplir C/N, que son extrañas al suelo. Se debe evaluar el impacto de dichas sustancias.	La fitoextracción si permite usos agrícolas posteriores. La fitoestabilización permite recuperar la cubierta vegetal, pero el suelo queda cubierto por las plantas tolerantes por lo que no se puede reutilizar.
<b>Eficiencia</b>	Son altamente eficientes	Es posible llegar a eficiencias del 90% (en remoción)	Para lograr altas eficiencias se requiere largo tiempo, principalmente en la fitoextracción. Solo remueve o inmoviliza la capa superficial de contaminación (alcance de raíces). Pueden remediar muchos metales simultáneamente. La quimiofitoestabilización puede producir efectos contrarios entre distintos metales (por ej.: puede solubilizar As al inmovilizar Cu por aumento del pH)
<b>Impacto visual</b>	Muy negativo ya que requiere instalación de grandes maquinarias o excavación en el caso de las técnicas <i>ex-situ</i>	Impacto moderadamente negativo si se realiza in situ ya que requiere instalaciones para suplir oxígeno y nutrientes al suelo. Impacto muy negativo si se excava el suelo (biorremediación <i>ex-situ</i> en biorreactores)	Impacto positivo en las técnicas de fitoextracción y fitoestabilización. Alta aceptación pública
<b>Costos</b>	Son muy costosas y se	Son económicas si se realizan <i>in-situ</i> . La	Son económicas y aplicables a gran escala.

	aplican a pequeñas superficies cada vez	remoción del suelo y el uso de biorreactores (biorremediación <i>ex situ</i> ) las encarece considerablemente	
<b>Duración del proceso</b>	Son rápidas (semanas)	Son muy lentas <i>in-situ</i> (años), la ejecución <i>ex-situ</i> las acelera (meses)	La fitoextracción es muy lenta (años-siglos), dependiendo de la especie utilizada, la contaminación del suelo y las estrategias de mejoramiento aplicadas.  La fitoestabilización es relativamente rápida (meses). La quimiofitoestabilización es más rápida (pocos meses).
<b>Generación de desechos posteriores</b>	Algunas técnicas (lavado, enjuague, electrocinética) generan desechos que requieren post-tratamiento	No generan desechos posteriores (no se requieren más tratamientos)	La fitoestabilización no genera desechos. La fitoextracción genera una ceniza de solo un 1% del volumen contaminado
<b>Monitoreo</b>	Los procesos tradicionales son cortos por lo que el monitoreo durante el proceso es breve. En general no requiere monitoreo posterior	Requiere monitoreo constante de T°, humedad y necesidades de C (por esto es difícil de realizar <i>in situ</i> ). En la biosorción los metales permanecen en el suelo (precipitados) por lo que se debe evaluar constantemente que estos se mantengan inocuos.	La fitoextracción no requiere mayor monitoreo durante el proceso y tampoco posterior.  La fitoestabilización requiere un monitoreo distanciado para asegurar el correcto desarrollo de las plantas en terreno.
<b>Otras limitantes</b>		Se deben buscar cepas resistentes a los metales y cuando corresponda, complementariamente a la acidez	Se deben buscar especies adecuadas (tolerantes o acumuladoras) y adaptadas a las condiciones climáticas del sitio a remediar. Dependiendo de la especie y el clima del sitio a remediar se puede requerir riego constante.

Fuente: Agudelo *et al.*, 2005; Capote *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2006; Glass, 2000

Como se expuso anteriormente, los métodos tradicionales ya sean *in-situ* o *ex-situ* alteran en exceso las características originales de los suelos y, en algunos casos, son tan costosos que muchas veces no podrían llevarse a la práctica. Por otro lado, solo pueden aplicarse en pequeñas superficies cada vez, a menos que se cuente con una gran cantidad de equipos y maquinarias, lo que encarece aún más los costos. La bio y fitorremediación no presentan estos problemas, ya que requieren poca o ninguna infraestructura. Sin embargo, la biorremediación presenta otras limitantes para su aplicación *in-situ* para remediar metales, tal como la necesidad de una fuente de C, por lo que es más conveniente para contaminantes orgánicos. La fitorremediación en cambio, es la alternativa que ha surgido con mayor fuerza para la remediación de suelos contaminados por metales, ya que no es agresiva, es de fácil implementación *in-situ* y presenta beneficios asociados al uso de especies vegetales. Entre ellas, las técnicas de fitoextracción y fitoestabilización son útiles para metales; sin embargo, solo la fitoextracción permite la remoción definitiva de los contaminantes. Su mayor desventaja, en comparación a las técnicas tradicionales es el tiempo requerido para remediar un suelo que puede llegar a varias décadas e incluso cientos de años, dependiendo de la especie utilizada, el grado de contaminación del suelo y las características agroclimáticas del área a remediar. Para solucionar esta limitante, se han planteado estrategias de mejoramiento de la fitoextracción, que intentan disminuir el tiempo necesario para remediar un suelo (se aborda en la tesis).

Cada una de estas estrategias de remediación debe ser evaluada para el sitio específico que se desea tratar, ya que en algunos casos se justifica la aplicación de técnicas más invasivas o costosas mientras en otros casos es preferible la utilización de métodos amistosos con el medio y más económicos como la fitorremediación. Además, en los últimos años se han desarrollado estrategias de combinación de técnicas de remediación, entre las cuales la fitorremediación aparece como factible de combinarse con técnicas fisicoquímicas, en el caso de suelos con alta contaminación que requieren de técnicas más agresivas inicialmente y luego de técnicas que permitan revegetar y estabilizar la contaminación remanente (Bamberg, 2009).

## 1.5. Bibliografía específica

Adriano, D. (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments: biogeochemistry, bioavailability and risk of metals (Segunda Ed.). New York, New York: Springer Verlag.

Adferi Consultores Ambientales. (2011). Adferi en la remediación de sitios contaminados. Adferi. México D.F. México. Disponible: <http://www.adferi.com.mx/remediacion-de-sitios-contaminados/> [2015, 10 de mayo].

Agudelo, L., Macias, K. I., & Suárez, A. (2005). Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos. Revista Lasallista de Investigación, 2(1), 57-60.

Akinci, G., & Guven, D. (2011). Bioleaching of heavy metals contaminated sediment by pure and mixed cultures of *Acidithiobacillus* spp. Desalination, 268, 211-226.

Alcaino, I. (2012). Análisis y comparación de tecnologías de remediación para Suelos contaminados con metales. Tesis para optar al título de Ingeniero Civil. Facultad de Ciencias químicas y matemáticas. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 63 pp.

Ali, H., Khan, E. & Sajad, M. (2013). Phytoremediation of heavy metals— Concepts and applications. Chemosphere, 91(7), 869-881.

Alluri, H., Ronda, S., Settalluri, V., Singh, J., Suryanarayana, B. & Venkateshwar, P. (2007). Biosorption: an eco-friendly alternative for heavy metal removal. African Journal of biotechnology, 6(25), 2924-2931.

Alvarenga, P., Gonçalves, A., Fernandes, R. de Varennes, A., Vallini, G., Duarte, E. & Cunha-Queda, A. (2009). Organic residues as immobilizing agents in aided phytostabilization: (I) Effects on soil chemical characteristics. Chemosphere, 74(10), 1292-1300.

Alvarenga, P., Gonçalves, A., Fernández, R., Varennes, A., Vallini, G., Duarte, E. & Cunha-Queda, A. (2008). Evaluation of compost and liming material in the phytostabilization of a mine soil using perennial ryegrass. The Science of the Total Environment, 406, 43-56.

Alvarez, P. & W. Illman. (2006). Biorremediación and natural attenuation. Process Fundamentals and Mathematical Models. Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley & Sons, Inc. 578 pp.

Archibold, V. (2010). Evaluación de tres materiales a escala de laboratorio para ser utilizados como material de relleno en barreras reactivas permeables. Tesis para optar al grado de Magíster en Recursos Hídricos. Facultad de Ingeniería Agrícola, Universidad de Concepción. Concepción, Chile. 57 pp.

Asociación de Semilleros Argentinos (ASA) (2015). Fitomejoramiento. Disponible: <http://asabiotecnologia.com.ar/contacto> [2015, 18 de agosto].

Azcón, R., Perálvarez, M., Biró, B., Roldán, A. & Ruíz-Lozano, J. M. (2009). Antioxidant activities and metal acquisition in mycorrhizal plants growing in a heavy-metal multicontaminated soil amended with treated lignocellulosic agrowaste. *Applied Soil Ecology*, 41(2), 168-177.

Babu, A. G., Kim, J. D. & Oh, B. T. (2013). Enhancement of heavy metal phytoremediation by *Alnus firma* with endophytic *Bacillus thuringiensis* GDB-1. *J Hazard Mater*, 250-251, 477-483.

Baker, A., & Smith, A. (2002). Metal hyperaccumulator plants: biological resources for exploitation in the phytoextraction of metal-contaminated soils (Symposium). Paper presented at the Plant biotechnology for the removal of organic pollutants and toxic metals from wastewaters and contaminated sites, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Lausanne, Switzerland.

Baker, A., & Walker, P. (1990). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. Heavy metal tolerance in plants. In: A. J. Shaw (Ed.), *Evolutionary Aspects* (pp. 155-177). Boca Raton, Florida. CRC Press.

Barceló, J., & Poschenrieder, C. (2003). Phytoremediation: Principles and perspectives. *Contributions to Science*, 2, 333-344.

Barona, A., Aranguiz, I., & Elías, A. (2000). Metal associations in soils before and after EDTA extractive decontamination: implications for the effectiveness of further cleanup procedures. *Environmental Pollution*, 113, 79-85.

BASF. (2007). Trilon M Types (Technical Information TI/EVD 1418). Alemania.

Batista, R., & Sánchez, A. (2009). Fitorremediación de metales pesados y microorganismos. *Medio Ambiente y Desarrollo*, 9(16), 1-6.

Becerril, J., Barrutia, J., Hernández, G., Olano, A. & Garbisu, C. (2007). Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación *Ecosistemas*, 16(2), 50-55.

Bellion, M., Courbot, M., Jacob, C., Blaudez, D. & Chalot, M. (2006). Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Letters*, 254(2), 173-181.

Beesley, L., Moreno-Jimenez, E. & Gomez-Eyles, J. L. (2010). Effects of biochar and greenwaste compost amendments on mobility, bioavailability and toxicity of inorganic and organic contaminants in a multi-element polluted soil. *Environmental Pollution*, 158(6), 2282-2287.

Bhargava, A., Carmona, F., Bhargava, M. & Srivastava, S. (2012). Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Journal of environmental management*, 105, 103-120.

BioPlanta GmbH. (2016). Servicios de Ingeniería: Saneamiento de suelos. Bioplanta. Leipzig, Alemania. Disponible: [http://www.bioplanta-leipzig.de/es\\_index.html](http://www.bioplanta-leipzig.de/es_index.html) [2016, 22 de Julio].

Biosigma. (2015). Biorremediación de productos mineros. Santiago, Chile. Disponible: <http://www.biosigma.cl/productos-y-servicios/bioremediacion-de-productos-mineros/> [2016, 11 de mayo].

BioSoil. (2008). Techniques. BioSoil. Disponible: <http://www.biosoil.com/site/en/biosoilbv/technieken.html> [2008, 21 de Julio].

Blaylock, M., Salt, D. E., Dushenkov, V., Zakharova, C., Gussman, Y., Kapulnik, B. D., Ensley, B. D., & Raskin, I. (1997). Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environmental Science and Technology*, 31, 860-865.

Bolan, N., Park, J., Robinson, B., Naidu, R. & Huh, K. (2011). Phytostabilization: A Green Approach to Contaminant Containment. *Advances in Agronomy* 112: 145-204.

Bondada, B., & Ma, L. Q. (2003). Tolerance of heavy metals in vascular plants: arsenic hyperaccumulation by chinese brake fern (*Pteris Vittata* L.). In S. Chandra & M. Srivastava (Eds.), *Pteridology in the new Millenium* (pp. 24). Netherlands: Kluwer Academic Publishers

Brallier, S., Harrison, R., Henry, C., & Dongsen, X. (1994). Liming effects on availability of Cd, Cu, Ni and Zn in a soil amended with sewage sludge 16 years previously. *Water, Air and Soil Pollution*, 86(1-4), 195-206

Brunetti, G., Farrag, K., Soler-Rovira, P., Ferrara, M., Nigro, F. & Senesi, N. (2012). The effect of compost and *Bacillus licheniformis* on the phytoextraction of Cr, Cu, Pb and Zn by three brassicaceae species from contaminated soils in the Apulia region, Southern Italy. *Geoderma*, 170, 322-330.

Cabello, M. (2015). Nickel hyperaccumulating plants: strategies to improve phytoextraction and a characterization of *Alyssum* endemic to the Iberian Peninsula. Tesis para optar al grado de Doctora en Ciencias Ambientales. Departamento de Edafología y Química Agrícola, Universidad de Santiago de Compostela. Galicia, España. 219 pp.

Cai, P., Huang, Q., Xie, Z., & Chen, W. (2007). Adsorption characteristic of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Cd}^{2+}$  on soil colloids and mineral as influenced by heavy metal-resistant bacterium *enterobacter aerogenes*. In Y. Zhu & N. W. Lepp & R. Naidu (Eds.), *Biogeochemistry of Trace Elements: Environmental Protection, Remediation and Human Health* (pp. 516-517). Bei Jing: Tsinghua University Press.

Cao, A., Carucci, A., Lai, T., La Colla, P., & Tamburini, E. (2007). Effect of biodegradable chelating agents on heavy metals phytoextraction with *Mirabilis jalapa* and on its associated bacteria. *European Journal of Soil Biology*, 43, 200-206.

Caporale, A. G., Pigna, M., Sommella, A., Dynes, J. J., Cozzolino, V. & Violante, A. (2013). Influence of compost on the mobility of arsenic in soil and its uptake by bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) irrigated with arsenite-contaminated water. *Journal of environmental management*, 128, 837-843.

Capote, N., Ariza, S., & Hernández, C. (2004). Panorama y estado actual de la biolixiviación de minerales oxidados para la extracción de níquel y cobalto. *Tecnología Química*, 24(2), 37-44.

Castaldi, P., Santona, L. & Melis, P. (2005). Heavy metal immobilization by chemical amendments in a polluted soil and influence on white lupin growth. *Chemosphere*, 60(3), 365-371.

Castaldi, P., Melis, P., Silveti, M., Deiana, P. & Garau, G. (2009). Influence of pea and wheat growth on Pb, Cd, and Zn mobility and soil biological status in a polluted amended soil. *Geoderma*, 151(3-4), 241-248.

Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM). (2008). Cobre y Medio Ambiente. CIMM. Disponible: [www.cimm.cl/htmls/cobre\\_medioambiente.html](http://www.cimm.cl/htmls/cobre_medioambiente.html) o [www.fitorremediación.cl](http://www.fitorremediación.cl) [2008, 26 de Julio].

Cestone, B., Vogel-Mikus, K., Quartacci, M. F., et al. (2012). Use of micro-PIXE to determine spatial distributions of copper in *Brassica carinata* plants exposed to CuSO<sub>4</sub> or CuEDDS. *Sci Total Environ*, 427-428, 339-346.

Chaney, R. (1983). Plant uptake of inorganic waste. In P. B. Parr & K. Marsh (Eds.), *Land Treatment of Hazardous Waste* (pp. 50-76). Park Ridge, New Jersey, USA: Noyes Data Corporation.

Chaney, R., Li, Y.-M., Brown, S., Homer, F., Malik, M., Angle, S., Baker, A., Reeves, R., & Chin, M. (2000). Improving Metal Hyperaccumulator Wild Plants to develop commercial phytoextraction systems: Approaches and progress. In N. Terry & G. Bañuelos (Eds.), *Phytoremediation of contaminated soil and water* (pp. 130-132). Boca Ratón, Florida: Lewis Publisher.

Chehregani, A., Noori, M. & Yazdi, H. L. (2009). Phytoremediation of heavy-metal-polluted soils: Screening for new accumulator plants in Angouran mine (Iran) and evaluation of removal ability. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(5), 1349-1353.

Chubar, N., Visser, T., Avramut, C., & Waard, H. (2013). Sorption and precipitation of Mn<sup>+2</sup> by viable and autoclaved *Shewanella putrefaciens*: Effect of contact time. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 100, 232-250.

Cluis, C. (2004). Junk-greedy greens: Phytoremediation as a new option for soil decontamination. *BioTeach Journal* (Canadá), 2, 62-68.

Colpaert, J. V. (2008). Chapter 11 Heavy metal pollution and genetic adaptations in ectomycorrhizal fungi. *British Mycological Society Symposia Series*. 27: 157-173 pp.

Cooper, E. M., Sims, J. T., Cunningham, S., Huang, J. W., & Berti, W. R. (1999). Chelate-assisted phytoextraction of lead from contaminated soils. *Journal of Environmental Quality*, 28, 1709-1719.

Cornejo, P., Meier, S., Borie, G., Rillig, M. C. & Borie, F. (2008). Glomalin-related soil protein in a Mediterranean ecosystem affected by a copper smelter and its contribution to Cu and Zn sequestration. *Sci Total Environ*, 406(1-2), 154-160.

Cui, S., Zhou, Q. X., Wei, S. H., Zhang, W., Cao, L. & Ren, L. P. (2007). Effects of exogenous chelators on phytoavailability and toxicity of Pb in *Zinnia elegans* Jacq. *J Hazard Mater*, 146(1-2), 341-346.

Delgadillo-López, A., González-Ramírez, C., Prieto-García, F., Villagómez-Ibarra, J. & Acevedo-Sandoval, O. (2011). Fitorremediación: una alternativa para eliminar la contaminación. *Tropical and subtropical agroecosystems*, 14(2), 597-612.

Deram, A., Petit, D., Robinson, B., Brooks, R. R., Gregg, P., & Van-Halluwyn, C. (2000). Natural and induced heavy metal accumulation by *Arrhenatherum eliatum*: implications for phytoremediation. *Communications of Soil Science. Plant Analysis*, 31, 413-421.

Do Nascimento, C., Amarasiriwardena, D. & Xing, B. (2006). Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environmental Pollution*, 140(1), 114-123.

Doumett, S., Lamperi, L., Checchini, L., Azzarello, E., Mugnai, S., Mancuso, S., Petruzzelli, G. & Del Bubba, M. (2008). Heavy metal distribution between contaminated soil and *Paulownia tormentosa*, in a pilot-scale assisted phytoremediation study: influence of different complexing agents. *Chemosphere*, 72(10), 1481-1490.

DOWA ECO-SYSTEM Co. Ltda. (2008). Soil Remediation. DOWA Eco-System Co., Ltda. . Chiyoda-ku, Tokyo, Japan. Disponible: <http://www.dowa-eco.co.jp/en/soil.html> [2008, 21 de Julio].

Ecolotree. (2015). Serving your needs. Ecolotree. NorthLiberty, Iowa, USA. Disponible: [www.ecolotree.com](http://www.ecolotree.com) [2016, 23 de Julio].

EdenSpace Systems Corporation. (2008). Products & Technology: Environmental Solutions. EdenSpace. Manhattan, Kansas, USA. Disponible: <http://www.edenspace.com/products/envirosolutions.html?expandable=1> [2008, 22 de Julio].

Elouear, Z., Bouhamed, F. & Bouzid, J. (2014). Evaluation of Different Amendments to Stabilize Cadmium, Zinc, and Copper in a Contaminated Soil: Influence on Metal Leaching and Phytoavailability. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 23(6), 628-640.

Environmental Protection Agency. (2010). CERCLA Overview. Washington D.C, USA. Disponible: <http://www.epa.gov/superfund/contacts/index.htm> [2010, 20 de diciembre].

Epelde, L., Hernández-Allica, J., Becerril, J. M., Blanco, F. & Garbisu, C. (2008). Effects of chelates on plants and soil microbial community: Comparison of EDTA and EDDS for lead phytoextraction. *Science of the Total Environment*, 401(1-3), 21-28.

Epstein, E., & Bloom, A. (2005). *Mineral nutrition of Plants: Principles and Perspectives*. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, Inc.

Estrucplan. (2015). Remediación de suelos contaminados con hidrocarburos. Estrucplan. Buenos Aires, Argentina. Disponible: <http://www.estrucplan.com.ar/Producciones/Entrega.asp?identrega=3092> [2015, 10 de mayo]

Evangelou, M., Ebel, M. & Schaeffer, A. (2007). Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents. *Chemosphere*, 68(6), 989-1003.

Evangelou, M. & Deram, A. (2014). Phytomanagement: a realistic approach to soil remediating phytotechnologies with new challenges for plant science.



International Journal of Plant Biology & Research, 2(4), 1023.

Faisal, M. (2008). A new hope for environment clean up. Pakissan.com (portal web). Peshawar. Disponible: <http://www.pakissan.com/english/advisory/biotechnology/new.hope.for.environment.clean.up.shtml> [2008, 23 de Mayo].

Fassbender, H. (1987). *Química de Suelos*. San José: Editorial Ilica. 420 pp.

Fässler, E., Robinson, B. H., Stauffer, W., Gupta, S. K., Papritz, A. & Schulin, R. (2010). Phytomanagement of metal-contaminated agricultural land using sunflower, maize and tobacco. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 136(1–2), 49-58.

Fayuan, W., Xiangui, L., & Rui, Y. (2005). Heavy metal uptake by arbuscular mycorrhizas of *Elsholtzia splendens* and the potential for phytoremediation of contaminated soil. *Plant and soil*, 269, 225-232.

Fellet, G., Marchiol, L., Perosa, D. & Zerbi, G. (2007). The application of phytoremediation technology in a soil contaminated by pyrite cinder. *Ecological Engineering*, 31, 207-214.

Fernández, D. (2005). Fitoextracción inducida de Cr en un suelo calcáreo. Unpublished Máster Experimental en Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Barcelona, Barcelona.

Fulekar, M. H., Singh, A. & Bhaduri, A. (2009). Genetic engineering strategies for enhancing phytoremediation of heavy metals. *African Journal of biotechnology*, 8(4), 529-535.

Gadd, G. (2009). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*, 156(3), 609-643.

Gaur, A., & Adholeya, A. (2004). Propsect of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soil. *Current Science*, 86(4), 528-534.

Gerth, A. (2000). Phytoremediation of Soil and Sludge with special Examination of Heavy Metal Contamination. In D., Wise, D., Trantolo, E., Cichon, H. Inyang & U. Stottmeister (Eds.), *Bioremediation of Contaminated Soils* (pp. 903). New York, USA: Marcel Dekker, Inc.

Ghosh, M., & Singh, S. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Applied Ecology and Environmental Research*, 3(1), 1-18.

Ginocchio, R. (2000). Effects of a copper smelter on a grassland community in the Puchuncaví Valley, Chile. *Chemosphere*, 41, 15-23.

Ginocchio, R. (2004). Solución vegetal. *Induambiente (Chile)*, 67, 30-32.

Glass, D. (1999). U.S and international activities in phytoremediation: Industry and Market Overview (Reporte Comercial). Dublin, Ireland: D. Glass Associates Inc.

Glass, D. (2000). Economic potential of phytoremediation. In: Raskin, I. & Ensley, B. (Ed), *Phytoremediation of Toxic Metals* (pp. 15-31). New York, New York, USA. John Wiley & Sons Inc.

González-Mendoza, D. & Zapata-Pérez, O. (2008). Mecanismos de tolerancia a elementos potencialmente tóxicos en plantas. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 53-61.

Gutierrez, J., Amaro, F., De Francisco, P., Cubas, L. & Martín-González, A. (2011). Ciliate metallothioneins: unique microbial eukaryotic heavy-metal-binder molecules. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 16(7), 1025-1034.

Hamberg, R. (2009). In situ and on-site soil remediation techniques. Bachelor. Department of Civil and Environmental Engineering, Lulea University of Technology, Suecia 45 pp.

Hartley, W., Dickinson, N., Riby, P. & Lepp, N. (2009). Arsenic mobility in brownfield soils amended with green waste compost or biochar and planted with *Miscanthus*. *Environmental Pollution*, 157(10), 2654-2662.

Hashimoto, Y., Yamaguchi, N., Takaoka, M. & Shiota, K. (2011). EXAFS speciation and phytoavailability of Pb in a contaminated soil amended with compost and gypsum. *Science of the Total Environment*, 409(5), 1001-1007.

Hernández-Allica, J., Becerril, J. M. & Garbisu, C. (2008). Assessment of the phytoextraction potential of high biomass crop plants. *Environmental Pollution*, 152(1), 32-40.

Heeraman, D., Claassen, V. & Zasoki, R. (2004). Interaction of lime, organic matter and fertilizer on growth and uptake of arsenic and mercury by *Zorro fescue* (*Vulpia myuros* L.). *Plant and soil*, 234(2), 215-231.

Huang, J., Chen, J., Berti, W. & Cunningham, S. (1997). Phytoremediation of lead contaminated soil: role of synthetic chelates in lead phytoextraction. *Environmental Science and Technology*, 31(3), 800-805.

Huang, H., Li, T., Gupta, D., He, Z., Yang, X.-E., Ni, B. & Li, M. (2012). Heavy metal phytoextraction by *Sedum alfredii* is affected by continual clipping and phosphorus fertilization amendment. *Journal of Environmental Sciences*, 24(3), 376-386.

Hussein, H., Farag, S., Kandeel, K. & Moawad, H. (2004). Biosorption of heavy metal from waste water using *Pseudomonas* sp. *Electronic Journal of Biotechnology*, 7(1), 38-46.

Industry Canada. (2005). *Soil Remediation Technologies: Assessment-Clean-Up- Decommissioning-Rehabilitation*. Industry Canadá. Disponible: <http://www.ic.gc.ca/epic/site/ea-ae.nsf/en/ea02201e.html> [2008, 21 de Julio].

Jeong, S., Moon, H. S. & Nam, K. (2015). Increased ecological risk due to the hyperaccumulation of As in *Pteris cretica* during the phytoremediation of an As-contaminated site. *Chemosphere*, 122, 1-7.

Karami, A. & Shamsuddin, Z. (2010). Phytoremediation of heavy metals with several efficiency enhancer methods. *African Journal of biotechnology*, 9(25), 3689-3698.

Kazakou, E., Dimitrakopoulos, P., Baker, A. J., Reeves, R. & Troumbis, A.

(2008). Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 83(4), 495-508.

Kidds, P. S., Becerra, C., García, M. & Monterroso, C. (2007). Aplicación de plantas acumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género *Alyssum* L. *Ecosistemas (España)*, 16, 489.

Kidd, P., Barceló, J., Bernal, P., Navari-Izzo, F., Poschenrieder, C., Shilev, S., Clemente, R. & Monterroso, C. (2009). Trace element behavior at the root-soil interface: Implications in phytoremediation. *Environmental and Experimental Botany*, 67, 243-259.

Krämer, U. (2010). Metal Hyperaccumulation in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61(1), 517-534.

Kulkarni, S., Ballal, A. & Apte, S. (2013). Bioprecipitation of uranium from alkaline waste solutions using recombinant *Deinococcus radiodurans*. *Journal of Hazardous Materials*, 262, 853-861.

Lasat, M. (2000). *The Use of Plants for the Removal of Toxic Metals from Contaminated Soil (Reporte EPA)*. Washington D.C, USA: Environmental Protection Agency.

Lee, J. & Sung, K. (2014). Effects of chelates on soil microbial properties, plant growth and heavy metal accumulation in plants. *Ecological Engineering*, 73, 386-394.

Leitenmaier, B. & Küpper, H. (2013). Compartmentation and complexation of metals in hyperaccumulator plants. *Frontiers in Plant Science*, 4, 374.

Li, Y., Chaney, R., Brewer, E., Angle, J. S. & Neklin, J. (2003). Phytoextraction of nickel and cobalt by hyperaccumulator *Alyssum* species grown on nickel-contaminated soils. *Environmental Science & Technology*, 37, 1463-1468.

Lingua, G., Todeschini, V., Grimaldi, M., Baldantoni, D., Proto, A., Cikatelli, A., Biondi, S., Torrigiani, P. & Castiglione, S. (2014). Polyaspartate, a biodegradable chelant that improves the phytoremediation potential of poplar in a highly metal-contaminated agricultural soil. *J Environ Manage*, 132, 9-15.

Lloyd, J. (2002). Bioremediation of metals; the application of micro-organisms that make and break minerals. *Microbiology Today*, 29, 67-69.

Lone, M. I., He, Z., Stoffella, P. J. & Yang, X. (2008). Phytoremediation of heavy metal polluted soils and water: Progresses and perspectives. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(3), 210-220.

Lu, H., Li, Z., Fu, S., Mendez, A., Gasco, G. & Paz-Ferreiro, J. (2014). Can biochar and phytoextractors be jointly used for cadmium remediation? *PLoS One*, 9(4), e95218.

Macnair, M. R., Tilstone, G. H. & Smith, S. E. (2000). The genetic of metal tolerance and accumulation in higher plants. In N. Terry & G. Bañuelos (Eds.), *Phytoremediation of contaminated soil and water* (pp. 235-250). Boca Raton, Florida: Lewis Publishers.

Macnair, M. (1993). The genetic of metal tolerance in vascular plants. *New Phytologist*, 124, 541-559.

Madrid, F., Liphadzi, M. S. & Kirkham, M. (2003). Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. *Journal of Hydrology*, 272(1-4), 107-119.

Mani, D. & Kumar, C. (2014). Biotechnological advances in bioremediation of heavy metals contaminated ecosystems: an overview with special reference to phytoremediation. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 11(3), 843-872.

Marrero-Coto, J., Amores-Sanchez, I., & Coto-Perez, O. (2012). Fitorremediación, una tecnología que involucra a plantas y microorganismos en el saneamiento ambiental. *ICIDCA*, 46(3), 52-61.

McGrath, S. & Zhao, F-J. (2003). Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(3), 277-282.

Mehes-Smith, M., Nkongolo, K. & Cholewa, E. (2013). Coping mechanisms of plants to metal contaminated soil. In: Silvern, S. (Ed.), *Environmental change and sustainability InTech*.

Meier, S., Azcón, R., Cartes, P., Borie, F. & Cornejo, P. (2011). Alleviation of Cu toxicity in *Oenothera picensis* by copper-adapted arbuscular mycorrhizal fungi and treated agrowaste residue. *Applied Soil Ecology*, 48(2), 117-124.

Memon, A., & Schröder, P. (2009). Implications of metal accumulation mechanisms to phytoremediation. *Environmental science and pollution research international*, 16(2), 162-175.

Méndez, M., & Maier, R. (2008). Phytostabilization of Mine Tailings in Arid and Semiarid Environments-An Emerging Remediation Technology. *Environmental Health Perspectives*, 116(3), 278-283.

Merlos, M., Anjum, N., Heger, Z., Zitka, O., Adam, V., Pereira, E. & Kizek, R. (2016). Role of Phytochelators in Redox Caused Stress in Plants and Animals. In: Sahanker, A. (Ed), *Abiotic and Biotic Stress in Plants-Recent Advances and Future Perspectives* (pp. 395-410). Aveiro, Portugal. InTech.

Mertens, J., Luysaert, S. & Verheyen, K. (2005). Use and abuse of trace metal concentrations in plant tissue for biomonitoring and phytoextraction. *Environmental Pollution*, 138(1), 1-4.

Meuser, H. (2012). *Soil Remediation and Rehabilitation: Treatment of Contaminated and Disturbed Land*, Springer Netherlands. 169 p.

Meyer, C., Kostecka, A., Saumitou-Laprade, P., Créach, A., Castric, V., Pauwels, M. & Frérot, H. (2010). Variability of zinc tolerance among and within populations of the pseudometallophyte species *Arabidopsis halleri* and possible role of directional selection. *New Phytologist*, 185(1), 130-142.

Milner, M. & Kochian, L. (2008). Investigating Heavy-metal Hyperaccumulation using *Thlaspi caerulescens* as a Model System. *Annals of Botany*, 102(1), 3-13.

Milton, J. (1974). Mejoramiento genético de las cosechas. México D.F, México: Limusa S.A.

Minguzzi, C. & Vergnano, O. (1948). Il contenuto di nickel nelle ceneri di *Alyssum bertolonii* Desv. *Memorie Societa Toscana di Scienza Naturali*, 55 (serie A), 49-77.

Miransari, M. (2010). Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. *Plant Biology*, 12(4), 563-569.

Miransari, M. (2011). Hyperaccumulators, arbuscular mycorrhizal fungi and stress of heavy metals. *Biotechnology Advances*, 29(6), 645-653.

Monsant, A., Tang, C. & Baker, A. (2008). The effect of nitrogen form on rhizosphere soil pH and zinc phytoextraction by *Thlaspi caerulescens*. *Chemosphere*, 73(5), 635-642.

Montalbán, B. (2015). Bacterial inoculation in *Helianthus tuberosus* for improving Phytoremediation of metal-polluted soils. Tesis para optar al grado de Doctor en Química Agrícola y Ciencias Biológicas Departamento de Química Agrícola y Bromatología, Universidad Autónoma de Madrid y Hasselt University. Madrid, España. 225 pp.

Mukhopadhyay, S. & Maiti, S. (2010). Phytoremediation of metal mine waste. *Applied Ecology and Environmental Research*, 8(3), 207-222.

Mulligan, C., Yong, R., & Gibbs, G. (2001). Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology*, 60, 193-207.

Munees, A. & Mulugeta, K. (2013). Recent trends in microbial biosorption of heavy metals: a review. *Biochemistry & Molecular Biology*, 1(1), 19-26.

Nabors, M. (2006). Introducción a la botánica. Madrid, Pearson Educación S.A. 744 pp.

Niu, L., Shen, Z. & Wang, C. (2011). Sites, pathways, and mechanism of absorption of Cu-EDDS complex in primary roots of maize (*Zea Mays* L.): anatomical, chemical and histochemical analysis. *Plant and Soil*, 343(1-2), 303-312.

Padmavathiamma, P. & Li, L. (2007). Phytoremediation Technology: Hyper-accumulation Metals in Plants. *Water, Air, and Soil Pollution*, 184(1-4), 105-126.

Pardo, T. (2013). Recuperación de suelos contaminados por elementos traza mediante fitotecnologías de estabilización. *Ecosistemas*, 22, 122-124.

Pagnanelli, F., Cruz Viggi, C., Cibati, A., Uccelletti, D., Toro, L., & Palleschi, C. (2012). Biotreatment of Cr (VI) contaminated waters by sulphate reducing bacteria fed with ethanol. *Journal of Hazardous Materials*, 199–200(0), 186-192.

Park, J., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N. & Chung, J.-W. (2011). Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal(loid) contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 185, 549-574.

Paulose, B., Datta, S. P., Rattan, R. K. & Chhonkar, P. (2007). Effect of

amendments on the extractability, retention and plant uptake of metals on a sewage-irrigated soil. *Environmental Pollution*, 146(1), 19-24.

Pichtel, J. & Bradway, D. (2008). Conventional crops and organic amendments for Pb, Cd and Zn treatment at a severely contaminated site. *Bioresource Technology*, 99(5), 1242-1251.

Pilon-Smiths, E., & Pilon, M. (2002). Phytoremediation of metals using transgenic plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21, 439-456.

Pilon-Smiths, E. (2004). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 15-39.

Pires, C. (2010). Bacteria in Heavy Metal Contaminated Soil: Diversity, Tolerance and Use in Remediation Systems. Tesis para optar al grado de doctor en Mycología aplicada. Cranfield University, Bedford, England. 228 pp.

Pivetz, B. (2001). Phytoremediation of contaminated soil and ground water at hazardous waste sites (Ground Water Issue EPA/540/S-01/500). Ada: EPA Ground water issue. Office of Solid Waste and Emergency Response. EPA/540/S-01/500.

Pollard, A., Reeves, R. & Baker, A. (2014). Facultative hyperaccumulation of heavy metals and metalloids. *Plant Science*, 217–218, 8-17.

Pollard, J., Powell, K., Harper, F., & Smith, J. (2002). The genetic basis of metal hyperaccumulation in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(6), 539-566.

Prasad, M., Sajwan, K., & Naidu, R. (2006). Trace Elements in the Environment: Biogeochemistry, Biotechnology, and Bioremediation. Boca Ratón, London, New York, USA: Taylor & Francis.

Pulford, I. & Watson, C. (2003). Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees-a review. *Environment International*, 29(4), 529-540.

Rajkumar, M., Sandhya, S., Prasad, M. & Freitas, H. (2012). Perspectives of plant-associated microbes in heavy metal phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1562-1574.

Rascio, N. & Navari-izzo, F. (2011). Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*, 180(2), 169-181.

Reeves, R. (2003). Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction. *Plant and Soil*, 249, 57-65.

ResearchMoz. (2014). Bioremediation Technologies And Services Market. Canadá. Disponible: <http://www.researchmoz.us/bioremediation-technologies-and-services-market-global-industry-analysis-size-share-growth-trends-and-forecast-2013-2019-report.html> [2016, 01 de agosto].

Robinson, B., Schulin, R., Nowack, B., Roulier, S., Menon, M., Clothier, B., Green, S., & Mills, T. (2006). Phytoremediation for the management of metal flux in contaminated sites. *Forestal, Snow and Landscape Research*, 80(2), 221-234.

Rodriguez-Freire, L., Sierra-Alvarez, R., Root, R., Chorover, J. & Field, J. A. (2014). Biomineralization of arsenate to arsenic sulfides is greatly enhanced at mildly acidic conditions. *Water Research*, 66(0), 242-253.

Rodríguez, V., Gonzaga, L., & de Barros, R. (2006). Recuperación de cobre a partir de concentrados de flotación por el proceso de biolixiviación (Informe de Actividades RT2006-021-00 para Proyecto ALFA-CETEM). Rio de Janeiro, Brasil: Centro de Tecnología Mineral (CETEM).

Ruttens, A., Mench, M., Colpaert, J., Boisson, J., Carleer, R. & Vangronsveld, J. (2006). Phytostabilization of a metal contaminated sandy soil. I: Influence of compost and/or inorganic metal immobilizing soil amendments on phytotoxicity and plant availability of metals. *Environmental Pollution*, 144(2), 524-532.

Salt, D., Smith, R. & Raskin, I. (1998). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 643-668.

Samac, D. & Tesfaye, M. (2003). Plant improvement for tolerance to aluminum in acid soils - A review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 75(3), 189-207.

Santibáñez, C., Verdugo, C. & Ginocchio, R. (2008). Phytostabilization of copper mine tailings with biosolids: Implications for metal uptake and productivity of *Lolium perenne*. *Science of the Total Environment*, 395(1), 1-10.

Sato, A., Takeda, H., Oyanagi, W., Nishihara, E. & Murakami, M. (2010). Reduction of cadmium uptake in spinach (*Spinacia oleracea* L.) by soil amendment with animal waste compost. *Journal of Hazardous Materials*, 181(1-3), 298-304.

Schacht, O. & Ajibo, K. (2002). *Soil Bioremediation: In-Situ vs. Ex-situ (Costs, Benefits, and Effects)*. Göteborg, Sweden. WSP Energy. 78 pp.

SGS. (2015). Estudio de remediación. Pudahuel, Chile. Disponible <http://www.sgs.cl/es-ES/Environment/Soil/Interpretation-and-Modeling/Contaminated-Land-Studies/Remediation-Study.aspx> [2015, 9 de mayo].

Sharples, J., Meharg, A., Chambers, S., & Cairney, J. (2002). Mechanism of arsenate resistance in the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae*. *Plant Physiology*, 124, 1327-1334.

Shen, Z.-G., Li, X.-D., Wang, C.-C., Chen, H.-M., & Chua, H. (2002). Lead phytoextraction from contaminated soil with high-biomass plant species. *Journal of Environmental Quality*, 31, 1893-1900.

Sheoran, V., Sheoran, A. & Poonia, P. (2009). Phytomining: A review. *Minerals Engineering*, 22(12), 1007-1019.

Shutchá, M., Mubemba, M., Faucon, M.-P., Luhembwe, M., Visser, M., Colinet, G. & Meerts, P. (2010). Phytostabilization of Copper-Contaminated Soil in Katanga: An Experiment with Three Native Grasses and Two Amendments. *International Journal of Phytoremediation*, 12(6), 616-632.

Silob Chile. (2015). Biorremediación al servicio de la naturaleza. Silob. Valparaíso, Chile. Disponible: <http://www.silobchile.cl/web/remedia.htm> [2016, 11 de mayo].

Singh, A., Kuhad, R. & Ward, O. (2009). Biological remediation of soil: an overview of global market and available technologies. In: A. Singh, Kuhad, R. & Ward, O. (Eds.), *Advances in Applied Bioremediation* (pp 1-19). Berlín, Alemania. Springer Berlín Heidelberg.

Sita SPE Ibérica (2014). Diagnóstico y Remediación de Suelos Contaminados. Disponible <http://www.sitaspe.es/suelos-contaminados> [2014, 28 de julio].

Smith, U. (2003). Enhancing phytoextraction: The effect of Chemical soil manipulation on mobility, plant accumulation and leaching of heavy metals. *Journal of Environmental Quality*, 32, 1939-2954.

Smith, S., Jakobsen, I., Grønlund, M. & Smith, F. (2011). Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Phosphorus Nutrition: Interactions between Pathways of Phosphorus Uptake in Arbuscular Mycorrhizal Roots Have Important Implications for Understanding and Manipulating Plant Phosphorus Acquisition. *Plant Physiology*, 156(3), 1050-1057.

Soilutions (2015). Soil remediation. Disponible: <http://www.soilutions.co.uk/contact-us/>. [2015. 23 de marzo].

Schwartz, C., Sirguy, C., Peronny, S., Reeves, R. D., Bourgaud, F. & Morel, J. L. (2006). Testing of Outstanding Individuals of *Thlaspi Caerulescens* for Cadmium Phytoextraction. *International Journal of Phytoremediation*, 8(4), 339-357.

Tabak, H., Lens, P., van Hullebusch, E. & Dejonghe, W. (2005). Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides-1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 4, 115-156.

Tangahu, B., Sheikh, S., Basri, H., Idris, M., Anuar, N. & Mukhlisin, M. (2011). A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants through Phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*, 2011, 1-31.

The Reynold Group. (2009). Service: soil remediation. Disponible: [http://www.reynolds-group.com/Services/Soil\\_Groundwater.asp](http://www.reynolds-group.com/Services/Soil_Groundwater.asp) [2009, 8 de marzo].

Torres, F. (2010). La familia de las metalotioneínas en *Tetrahymena* y su aplicación en el desarrollo de biosensores celulares para la detección de metales pesados. Tesis doctoral. Departamento de microbiología III, Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España. 281 pp.

Trotta, A., Falaschi, P., Cornara, L., Minganti, V., Fusconi, A., Drava, G. & Berta, G. (2006). Arbuscular mycorrhizae increase the arsenic translocation factor in the As hyperaccumulating fern *Pteris vittata* L. *Chemosphere*, 65(1), 74-81.

Tsezos, M. (2007). Biological removal of ions: Principles and applications, *Advanced Materials Research* (Vol. 20-21, pp. 589-596)

Turnau, K., Ryzca, P., Gianinazzi-Pearson, V., & Van Tuinen, D. (2001). Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soil and root of plants colonizing zinc wastes in southern Poland. *Mycorrhiza*, 10, 169-174.



Turnau, K. & Mesjasz-Przybylowicz, J. (2003). Arbuscular mycorrhiza of *Berjheya codii* and other Ni-hyperaccumulating members of Asteraceae from ultramafic soils in South Africa. *Mycorrhiza*, 13(4), 185-190.

Urban, A., Puschenreiter, M., Strauss, J. & Gorfer, M. (2008). Diversity and structure of ectomycorrhizal and co-associated fungal communities in a serpentine soil. *Mycorrhiza*, 18(6-7), 339-354.

U.S. Environmental Protection Agency. (2011). Phytotechnology Project Profiles. USEPA. Washington D.C. Disponible: [https://clu-in.org/products/phyto/search/phyto\\_list.cfm](https://clu-in.org/products/phyto/search/phyto_list.cfm) [2016, 1 de julio].

Utsunomyia, T. (1980). Japanese Patent Application N°55-72959.

Vamerali, T., Bandiera, M. & Mosca, G. (2010). Field crops for Phytoremediation of metal-contaminated land. A review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(1), 1-17.

Vangronsveld, J., R. Herzig, N. Weyens, et al. (2009). Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(7), 765-794.

Van Nevel, L., Mertens, J., Oorts, K. & Verheyen, K. (2007). Phytoextraction of metals from soils: How far from practice? *Environmental Pollution*, 150(1), 34-40.

Vassilev, A., Schwitzguébel, J.-P., Thewys, T., Van der Lelie, D. & Vangronsveld, J. (2004). The use of Plant for Remediation of Metal-Contaminated soils. *The Scientific World Journal*, 4, 9-34.

Vavasseur, A. (2014). Bioremédiation des sols et des eaux: application aux pollutions chimique et nucléaire Pollution Atmosphérique. Paris, Francia, Association pour la Prévention de la Pollution Atmosphérique. Jun 2014: 80-86.

Vera, M., Schippers, A. & Sand, W. (2013). Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation-part A. *Applied and Microbiology and Biotechnology*, 97, 7529-7541.

Vetiver. (2015). Bioingeniería. Vetiver Chile. Disponible: <http://www.vetiver.cl/> [2015, 20 de agosto].

Vieira, R., & Volesky, B. (2000). Biosorption: a solution to pollution? *International Microbiology*, 3, 17-24.

Vigil, M., Marey-Pérez, M., Martínez Huerta, G. & Álvarez Cabal, V. (2015). Is phytoremediation without biomass valorization sustainable?-Comparative LCA of landfilling vs. anaerobic co-digestion. *Science of the Total Environment*, 505, 844-850.

Vijayaraghavan, K., & Yun, Y.-S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances*, 26, 266-291.

Vogel-Mikus, K., Pongrac, P., Kump, P., Necemer, M., & Regvar, M. (2006). Colonization of a Zn, Cd and Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox* Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake. *Environmental Pollution*, 139(2), 362-371.

Vogel-Mikuš, K., Drobne, D. & Regvar, M. (2005). Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonization of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. *Environmental Pollution*, 133(2), 233-242.

Vullo, D., Ceretti, H., Daniel, M., Ramírez, S., & Zalts, A. (2008). Cadmium, zinc and copper biosorption mediated by *Pseudomonas veronii* 2E. *Bioresource Technology*, 99(13), 5574-5581.

Wana, R. & Okieimen, F. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. International Scholarly Research Network, <http://dx.doi.org/10.5402/2011/402647>,

Wang, S. L., Liao, W., Yu, F., Liao, B. & Shu, W. (2009). Hyperaccumulation of lead, zinc, and cadmium in plants growing on a lead/zinc outcrop in Yunnan Province, China. *Environmental Geology*, 58(3), 471-476.

Warren, G., & Alloway, B. (2003). Reduction of arsenic uptake by lettuce with ferrous sulphate applied to contaminated soil. *Journal of Environmental Quality*, 32, 767-772.

Weyens, N., van der Lelie, D., Taghavi, S. & Vangronsveld, J. (2009). Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge. *Current Opinion in Biotechnology*, 20(2), 248-254.

Whiting, S., Reeves, R., Richards, D., Johnson, M., Cooke, J., Malaisse, F., Paton, A., Smith, J., Angle, J., Chaney, R., Ginocchio, R., Jaffré, T., Johns, R., McIntyre, T., Ow, P., Salt, D., Schat, H., Zhao, F., & Baker, A. (2004). Research priorities for conservation of metallophyte biodiversity and their potential for restoration and site remediation. *Society for Ecological Restoration International* 12(1): 106-116.

Willems, G., Frérot, H., Gennen, J., Salis, P., Saumitou-Laprade, P. & Verbruggen, N. (2010). Quantitative trait loci analysis of mineral element concentrations in an *Arabidopsis halleri* × *Arabidopsis lyrata petraea* F2 progeny grown on cadmium-contaminated soil. *New Phytologist*, 187(2), 368-379.

Wo, L., Li, H., Luo, Y., & Christie, P. (2004). Nutrients can enhance phytoremediation of copper-polluted soil by Indian mustard. *Environmental Geochemistry and Health*, 26, 331-335.

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

Wong, C., Wu, S., Kueh, C., Kjan, A., & Wong, M. (2007). The role of mycorrhizae associated with vetiver grown on Pb/Zn contaminated soils: greenhouse study. *Restoration Ecology*, 15(1), 60-67.

Wu, J., Hsu, F. C., & Cunningham, S. (1999). Chelate-assisted Pb phytoextraction: P availability, uptake, and translocation constraints. *Environmental Science & Technology*, 33, 1898-1904.

Xiaoli, L., Yaolong, W., Yanfeng, L., Lincheng, Z., & Xiaoning, J. (2011). Biosorption Behaviors of Biosorbents based on Microorganisms Immobilized by Ca-

alginate for removing lead (II) from aqueous solution. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 16, 808-820.

Zafar, S., Aquil, F., & Ahmad, I. (2007). Metal tolerance and biosorption potential of filamentous fungi isolated from metal contaminated agricultural soil. *Bioresource Technology*, 98, 2557-2561.

Zhuang, P., Shu, W., Li, Z., Liao, B., Li, J. & Shao, J. (2009). Removal of metals by sorghum plants from contaminated land. *Journal of Environmental Science (China)*, 21(10), 1432-1437.

**CAPITULO II**  
**LA INVESTIGACIÓN Y APLICACIÓN DE LA**  
**FITORREMEDIACIÓN DE SUELOS EN EL MUNDO, EN CHILE**  
**Y EN EL ÁREA DE ESTUDIO**



En este capítulo se describen las experiencias de fitorremediación de suelos contaminados por metales en el mundo y las experiencias de investigación básica y aplicada de la técnica, realizadas en Chile hasta la fecha. Se abarca tanto la temática de la fitoestabilización como la fitoextracción. Finalmente se hace énfasis en la investigación realizada previamente en el área de estudio (Puchuncaví y Quintero).

### **2.1. Experiencias prácticas de fitorremediación de suelos con cobre en el mundo**

Los siguientes ejemplos abarcan experiencias en remediación de cobre a nivel mundial, incluyéndose ensayos de campo ligados a la investigación, proyectos de descontaminación de áreas con financiamiento gubernamental y proyectos privados de descontaminación.

- **Chilliwack, provincia British Columbia, Canadá**
  - Descripción del sitio: zona de entrenamiento militar
  - Metal contaminante: plomo, cobre y zinc
  - Fuente de contaminación: balas que caen desde hace más de 50 años en la zona de fuego
  - Objetivo de la experiencia: descontaminación de sitios gubernamentales.
  - Fondos del Departamento de Defensa Nacional y Departamento del Medio Ambiente
  - Concentraciones iniciales: en 1999 las concentraciones máximas encontradas fueron 800, 3700, y 98 mg/kg para Cu, Pb y Zn, respectivamente.
  - Estrategia: fitoextracción
  - Especie (s) utilizada (s): *Brassica juncea* y *Pisum sativum*
  - Manejos: fertilización y aplicación de EDTA
  - Tiempo de ensayo: 1 año y 4 meses
  - Resultados: *Pisum sativum* fue más efectivo para la extracción que *Brassica juncea*. Concentraciones de EDTA entre 0,3 a 1,7 mmol/kg fueron efectivas en aumentar la concentración de metales, en comparación a suelos sin aplicación de EDTA, llegando a valores por sobre los 1000 mg/kg (hiperacumulación). No hubo cambios significativos en las concentraciones del suelo luego de un poco más de un año de remediación. (Foye, 2001)
  
- **Fundición Severonikel, península de Kola, Rusia**
  - Descripción del sitio: el sector se ubica dentro del círculo ártico, con una temperatura promedio de 1 °C. La península de Kola ha sido históricamente contaminada por la presencia de fundiciones de níquel y cobre; esto ha generado la desaparición de la vegetación transformándose en un área industrial desértica. El área afectada por la contaminación bordea las 20.000 ha. Para los ensayos se escogió un área de 4 ha, dividida en 12 subparcelas.
  - Contaminantes: cobre y níquel
  - Fuente de contaminación: fundición de Cu y Ni Severonikel (Figura 20)

- Objetivo de la experiencia: evaluar la viabilidad de la fitorremediación en condiciones extremas de temperatura
- Concentraciones iniciales: 450 a 2400 g/ha de Ni y 750 a 2700 g/ha de Cu
- Estrategia: fitoestabilización
- Especie: árboles del género *Betula* y del género *Salix*
- Manejos: aplicación de lodos de aguas residuales compostados
- Tiempo de evaluación: 2 años (septiembre 2003 a septiembre 2005)
- Resultados: las plantas se desarrollaron bien. A pesar de que la intención era fitoestabilizar, las plantas acumularon grandes cantidades de Ni y Cu en sus hojas, por lo que se propone que esta combinación especies-lodos es útil para la fitoextracción. Se observaron concentraciones de 457.2 mg/kg de Ni y 338.3 mg/kg de Cu en 2005 en comparación a los valores basales de 3,9 y 2,3 mg/kg, respectivamente. No se pudo determinar si hubo reducción de metales en el suelo dado que la contaminación continuaba llegando al suelo durante este período, por el funcionamiento de la fundición.  
(Kikuchi et al., 2006)



**Figura 20.** Imagen de las cercanías de la fundición Severonikel en la península Kola (arriba) y montaje de experimentos de fitorremediación (abajo)

Fuente: Russian Foundation for Basic Research, 2010

- **Mina Aznalcollar, Provincia de Sevilla, España, 1998**
- Descripción del sitio: área agrícola a lo largo de la ribera del río Guadiamar, afectada por la rotura de la balsa de decantación (de 150 ha) de la mina de piritas de Aznalcollar, ubicada al N de dicha área. El accidente dejó una capa de lodo de unos 10 cm en promedio en el área aledaña a la rotura, abarcando 4285 ha de superficie de suelos (arrasando con cultivos de oleaginosas, arroz, cereales y pastizales) y contaminó el curso de agua a lo largo de 20 km

(Figura 21). Del área contaminada, se destinó un área de 2 Ha a la experimentación de la fitorremediación, dividida en 20 parcelas.

- Metal contaminantes: arsénico, cadmio, cobre, plomo, antimonio y zinc
- Fuente de contaminación: rotura de depósito de estériles almacenados como lodos en balsa de decantación
- Objetivo de la experiencia: la Junta de Andalucía<sup>13</sup> otorgó fondos para la evaluación de la fitorremediación en esta área cuya descontaminación se considera como prioritaria (Proyecto Corredor Verde).
- Concentraciones iniciales: promedio 370 mg/kg de Pb, 747 mg/kg de Zn, 127 mg/kg de As, 132 mg/kg de Cu, 28 mg/kg de Sb, 2,2 mg/kg de Cd. pH de hasta 2,9.
- Estrategia: fitoextracción
- Especie(s) utilizada(s): *Brassica juncea*
- Manejo: cal y materia orgánica, como compost y estiércol, debido a la acidez del suelo y la previa remoción de la capa superficial de éste, que lo dejó carente de materia orgánica.
- Tiempo de evaluación: 4 años (2000-2004)
- Resultados: el estiércol aumentó la solubilidad de los metales, el compost la mantuvo, mientras que las enmiendas calcáreas las disminuyeron. Sin embargo, la atenuación natural, al segundo año disminuyó aún más las concentraciones de Cu soluble. En cuanto a la fitoextracción, el mejor resultado se obtuvo con la enmienda de estiércol, ya que el pH se mantuvo ácido y se mejoró el desarrollo de la planta. El cálculo del número de ciclos necesarios para remediar una capa de 20 cm de suelo arrojó un número de 15.000 ciclos, lo que obviamente descarta el uso de la planta para la fitorremediación de estos suelos (Aguilar et al., 2010; Bernal et al., 2007).

---

<sup>13</sup> institución en que se organiza el autogobierno de la Comunidad Autónoma de Andalucía





**Figura 21. Vista aérea de la balsa de decantación afectada en Aznalcóllar. Vista del avance de los lodos (abajo).**

Fuente: Aguilar, 2010

- **Planta industrial de preservantes y conservantes de madera, Gironde, suroeste de Francia**
  - Descripción del sitio: El sitio (6 ha) se encuentra en Gironde, suroeste de Francia y ha sido utilizado por más de un siglo para preservar y almacenar maderas y postes de servicios públicos. El suelo contaminado es de origen aluvial (Fluviosol).
  - Contaminantes: cobre, arsénico y cromo.
  - Fuente de contaminación: La planta industrial de preservantes y conservantes de madera: Creosota,  $\text{CuSO}_4$ , Arseniato de cobre cromatado (CCA) de tipo C.
  - Objetivo de la experiencia: Evaluar la fitoextracción de cobre y la producción de oleaginosas para biodiesel a través del cultivo del girasol. Se llevó a cabo un estudio de campo con varios cultivares comerciales y dos líneas mutantes de girasol.
  - Concentraciones iniciales: 65-2400 mg/kg de Cu, 10-53 mg/kg de As y 20-87 mg/kg de Cr en los suelos superficiales.
  - Estrategia: Fitoextracción
  - Especie: 6 variedades de girasol *Helianthus annuus L.* y 2 mutantes.
  - Manejos: adición de compost (5%) y de piedra caliza dolomítica (0,2%)
  - Tiempo de evaluación: 8 meses
  - Resultados: El Cu total del suelo bajó a un rango entre 163 hasta 1170

mg/kg. La enmienda incrementó el pH del suelo, redujo la exposición del Cu y promovió el crecimiento del girasol. A menores concentraciones de Cu total en el suelo, la extracción de Cu en los vástagos fue mayor en las variedades comerciales.

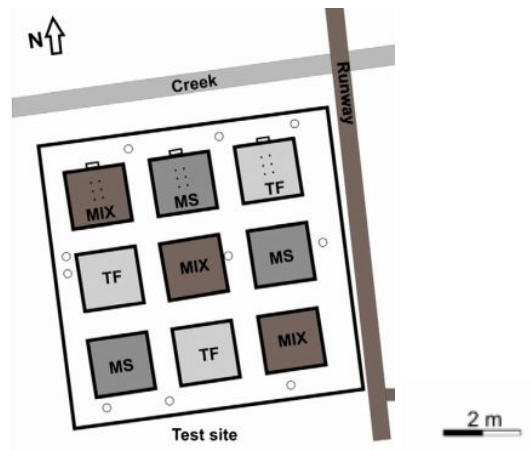
Con altas concentraciones de Cu total en el suelo, la extracción de Cu en los vástagos alcanzó el máximo en mutantes (52 g Cu/ha). Sin embargo, una proyección reveló que se requerirían 120 ciclos de cultivo para remediar el suelo, utilizando esta especie, por lo que se recomendó el cultivo del girasol más para la obtención de biomasa que para la fitoextracción (Kolbas et al., 2011).

- **Depósito de pirita en Torviscosa (Udine, Italia)**

- Descripción del sitio: el área de estudio abarca 1000 m<sup>2</sup> en Torviscosa (Udine, Italia) dentro de la Laguna de Grado y Marano. Este sitio es uno de los sitios prioritarios de Italia para su descontaminación.
- Contaminantes: arsénico, cadmio, cobre, plomo y zinc.
- Fuente de contaminación: Presencia de elementos traza en las cenizas de pirita que se descargaron en el sitio, como subproductos de la tostación de la pirita para la extracción de azufre (entre 1938 y 1970). Esta ceniza cubrió un horizonte de 0,7 m de profundidad sobre las arcillas. Este suelo, desprovisto de materia orgánica, es pobre en nutrientes y tiene un pH de 7,3. El sitio actualmente está escasamente colonizado por vegetación.
- Objetivo de la experiencia: i) Investigar el potencial crecimiento de las especies de cultivo, ii) Investigar la fitoextracción y fitoestabilización de elementos traza y su relación con el comportamiento de la raíz, iii) evaluar el efecto de la labranza en la fitorremediación
- Concentraciones iniciales: Mezcla de suelo y desecho de pirita. Concentraciones totales en mg/kg: 423 de As, 2,67 de Cd, 41,6 de Co, 1719 de Cu, 118 de Pb y 860 de Zn.
- Estrategia: fitoextracción y fitoestabilización
- Especies: girasol (*H. annuus* L., cv. Barolo), ballico italiano (*Lolium multiflorum* Lam., cv. Lenore), alfalfa (*Medicago sativa* L., cv. Europe) y rábano forrajero (*Raphanus sativus* L. var. oleiformis Pers., cv. Siletta).
- Manejos: El suelo fue arado y tamizado, luego se dividió el sitio en parcelas de 2 x 5 m, las cuales fueron fertilizadas con NPK y regadas. También se consideraron los mismos tratamientos para una parcela de referencia descontaminada.
- Tiempo de evaluación: 6 meses
- Resultados: la labranza (comparando el crecimiento de plantas luego del subsolado o arado tradicional) no resultó un elemento clave para la fitoextracción, pero el subsolado mejoró la producción de biomasa, mientras el arado incrementó la concentración de elementos traza en las plantas. El rábano forrajero y el girasol tuvieron el mayor desarrollo de biomasa aérea; el rábano forrajero absorbió mejor los elementos traza, tal vez debido a la baja sensibilidad de sus raíces a la contaminación. La extracción desde el suelo fue generalmente pobre (máximo 33 mg/m<sup>2</sup> de varios elementos traza), con 62% de Zn, y un 18% de Cu como los principales contaminantes cosechados. El hallazgo más importante fue la proliferación de finas raíces en las capas superficiales, lo que representa un gran sumidero para la fitoestabilización de elementos traza. Se concluye que la fitoextracción está generalmente lejos de llegar a ser una opción de manejo eficiente en los desechos de pirita. Una remediación sostenible requiere proveer una mejora significativa de la cobertura de vegetación para estabilizar mecánica y químicamente el sitio (Vamerli et al., 2011).

- **Depósito de pirita, Aljustrel, sector oeste de la Faja Pirítica Ibérica, Portugal.**
  - Descripción del sitio: mina de pirita localizada al suroeste de Portugal
  - Contaminantes: cobre, plomo y zinc
  - Fuente de contaminación: a consecuencia de la producción de pirita, sulfuros de varios elementos traza quedaron expuestos al aire y contaminaron suelos, aguas superficiales y sedimentos en las áreas cercanas.
  - Concentraciones iniciales: 362 mg/kg de Cu, 4350 mg/kg de Pb y 245 mg/kg de Zn.
  - Objetivo de la experiencia: Evaluar el efecto de enmiendas sobre la remediación de los suelos contaminados, así como determinar la posibilidad de revegetarlos.
  - Estrategia: Fitoestabilización
  - Especie: *Lolium perenne* L., Var. Concerto.
  - Manejos: lodos municipales, compost de desechos de jardín y materiales encalantes como: CaO, CaCO<sub>3</sub> + nutrientes.
  - Tiempo de evaluación: dos meses
  - Resultados: La aplicación de lodo municipal solo permitió disminuir las fracciones disponibles de metales y aumentar la biomasa de las especies (al triple); el lodo de jardín no tuvo efectos significativos. La adición de cal por sí sola tuvo efectos similares pero más bajos que el lodo (50% aumento biomasa) pero su uso combinado no fue sinérgico. Las extracciones fueron muy bajas. Las más altas se obtuvieron en el control para Cu y Zn (45 y 100 mg/kg respectivamente) y para suelo encalado para Pb (555 mg/kg). En conclusión, el lodo de desechos municipales con o sin encalado puede ser usado satisfactoriamente en la remediación de suelos ácidos y contaminados con metales, permitiendo el establecimiento de *L. perenne* en la técnica de fitoestabilización. No es útil para la fitoextracción (Alvarenga et al., 2008).
  
- **Mina de uranio en Ronneburg, Este de Thuringia, Alemania**
  - Descripción del sitio: antigua zona de volcado de lixiviados de uranio de baja ley provenientes de una mina de uranio (luego del cierre el vertedero fue cerrado)
  - Metal contaminante: uranio y otros metales en menor proporción
  - Fuente de contaminación: lixiviados de la mina que traspasaron las barreras y contaminaron suelo y aguas subterráneas
  - Objetivo de la experiencia: evaluar la eficiencia de la fitorremediación en este sitio contaminado, especialmente la remediación del uranio
  - Estrategia: fitoextracción y fitoestabilización
  - Especies: *Helianthus annuus* (girasol), *Triticale* (*Triticum aestivum*) y mostaza de la india (*Brassica juncea*)
  - Manejos: el suelo fue homogeneizado con maquinaria previo al inicio del ensayo. Se aplicaron tres manejos: suelo sin aditivos (TF), suelo+suelo calcáreo (MIX), suelo con micorrizas y bacterias (*Glomus intraradices* y *Streptomyces tandemae*, *S. acidiscabies*) (MS). En cada cuadrante se sembraron las tres especies mezcladas y se adiciono a todos fertilización en base a NPK (Figura 22).
  - Tiempo de evaluación: 100 días
  - Resultados: el girasol tuvo los mejores resultados en cuanto a acumulación de uranio, 0,09 mg kg<sup>-1</sup> en el tratamiento control y con micorrizas+ bacterias. El triticale tuvo la menor concentración de metales en su biomasa aérea; sin embargo, al producir considerablemente mayor biomasa que las otras especies, finalmente fue la especie que más extracción total presentó por unidad de superficie (260 mg/Ha de U en el tratamiento MIX con suelo

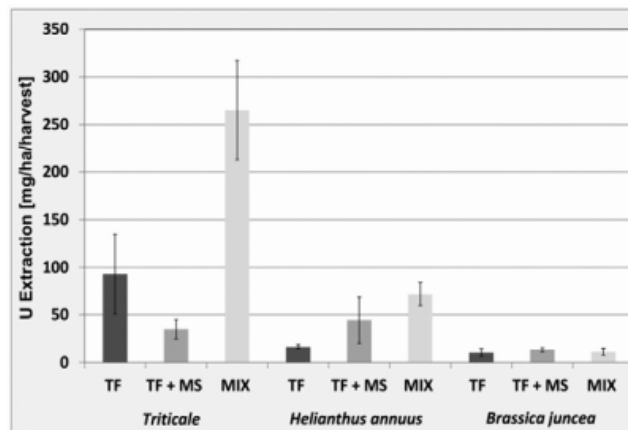
calcáreo, 120 g/Ha de Zn y 1 kg/Ha de Al). Entre los tratamientos, el tratamiento MIX produjo las mayores biomásas en las especies, a excepción de triticale, que crece bien en ambos suelos (Figura 23). En conclusión se considera que el triticale es una especie idónea para fines de fitoextracción en este sitio al no requerir enmiendas y producir gran cantidad de biomasa. No se hace referencia a diferencias en el suelo antes y después de la aplicación del proceso; sin embargo, los antecedentes indican que en el sitio se implementó un proyecto de recuperación por 15 años (7 billones de euros), que permitió la recuperación de la zona y su transformación en un lugar turístico (Figura 23)(Willscher et al., 2013).



**Figura 22. Parcelas experimentales.**

TF: suelo homogeneizado; MS: suelo homogeneizado+ micorrizas+ bacterias; MIX: suelo mezclado con suelo calcáreo

Fuente: Willscher et al., 2013



**Figura 23. Resultados de extracción de uranio en las especies y tratamientos aplicados.**

TF: suelo homogeneizado; MS: suelo homogeneizado + micorrizas + bacterias; MIX: suelo mezclado con suelo calcáreo

Fuente: Willscher et al., 2013



**Figura 24. Imagen del vertedero de uranio después del cierre de la mina (arriba) y luego de 15 años de recuperación (abajo).**

Fuente: Deutsche Welle (DW), 2006

- **Cultivos de arroz en sureste de Japón**

- Descripción del sitio: cultivos de arroz en Japón, contaminados por Cd proveniente de la actividad minera industrial (aguas contaminadas), desde los años 60 (Figura 25).
- Metal contaminante: principalmente Cd
- Fuente de contaminación: lixiviados de fundiciones de metales no férricos cargados de Cd y no tratados
- Concentraciones iniciales en suelo: 1,63 mg/Kg de Cd (extractable en HCl)
- Objetivo de la experiencia: evaluar la eficiencia de remoción de Cd de especies cultivables de arroz
- Estrategia: fitoextracción
- Especies: *Oryza sativa*, subespecie Indica
  - 2004: cultivares IR8, Milyang 23, Moretsu y Japonica Akitakomachi (conocido acumulador de Cd)
  - 2005: cultivares IR8, Milyang 23, Moretsu y Chokoukoku
  - 2006: cultivares IR8, Milyang 23, Moretsu y Chokoukoku
- Manejos: manejos tradicionales del arroz (suelos inundados por dos meses después del trasplante y luego drenados).
  - Tiempo de evaluación: 4 años. Luego de este, se muestreó suelo para su análisis y se sembró arroz comercial para evaluar su acumulación proyectada al consumo humano.
  - Resultados: el cultivar Chokoukoku presentó las mayores absorciones de Cu, removiendo en dos años más que cualquiera de los otros cultivares en tres años.

Asimismo los suelos de este cultivo presentaron los menores concentraciones de Cd al final de los 4 años (1,01 mg/kg, 38% de disminución). Adicionalmente sus raíces retienen muy poco Cd lo que es positivo dado que las raíces permanecen en el suelo. Además, luego de terminar el período de evaluación, la planta se continuó cultivando sin irrigación, sin disminuir su producción de biomasa.

- La concentración de Cd en el arroz, luego de su cultivo en las parcelas remediadas, fue, para el cultivar Chokoukoku de 0.54 mg/kg (se redujo un 57% respecto de la concentración en el control sin remediar). La recomendación del Codex alimentarius es de 0,4 mg/kg. Por tanto se estimó que 2 años adicionales de cultivo del cultivar Chokoukoku permitirían alcanzar los valores deseados, estableciéndose que esta es una especie ideal para la fitoextracción de suelos arroceros con baja a moderada contaminación por Cd (Murakami et al., 2009).



**Figura 25. Contaminación por Cd de los suelos agrícolas proveniente de las fundiciones, al fondo, en la provincia de Hunan, China**

Fuente: Chi Yin, 2014

En síntesis, aunque en la mayoría de los casos presentados las plantas utilizadas acumularon cantidades considerables de metales, en todos los casos presentados los tiempos de evaluación fueron relativamente cortos 2 meses - 4 años no permitiendo definir si las estrategias utilizadas permitirían la completa remediación de los suelos mediante fitoextracción. Esto, a excepción del caso de los cultivos de arroz, en el que la alta acumulación de las plantas y la baja contaminación de los campos, permitieron bajar significativamente la concentración de Cd en el suelo en dos años, estimándose un tiempo necesario para la remediación total del suelo, de 4 años.

En algunos casos, como el de Torviscosa, Gironde y Aznalcóllar, luego de la evaluación la técnica se descartó la fitoextracción por requerir mucho tiempo. En otros como el de Aljustrel, luego de la evaluación se recomendó directamente utilizar la técnica y especie, para la fitoestabilización.

Probablemente los casos antes expuestos fueron reportados por investigadores ligados a la ciencia; sin embargo es posible que otros casos de aplicación hayan sido o estén siendo realizados por entidades técnicas-comerciales que ofrecen los servicios de fitorremediación, por lo que no han sido reportados. En muchos casos la fitorremediación ha sido usada en combinación con otras técnicas

de remediación como punto inicial (en el caso de la estabilización del suelo) o como punto final (para el refinado de la descontaminación y el establecimiento de cobertura, que aporta elementos nutrientes y estructurantes al suelo (Hamberg, 2009).

Al contrario de lo que sucede para metales, si existe bastante información referente a casos de estudios exitosos de aplicación de técnicas de fitorremediación en contaminantes orgánicos (United States Environmental Protection Agency, 2012).

## **2.2. Investigación y aplicación desarrollada en fitorremediación en Chile**

### **2.2.1. Investigación y aplicación en fitoestabilización de relaves y suelos**

En Chile, la mayor parte de la investigación en torno a la fitorremediación se refiere a la fitoestabilización. El estudio de esta técnica se ha orientado principalmente a mitigar el problema de la contaminación generada por los tranques de relave. Derivado de esto, también se ha reorientado la investigación a la fitoestabilización de suelos.

#### **2.2.1.1. Fitoestabilización de suelos**

Gran parte de la investigación que se desarrolla corresponde a experiencias *ex-situ*, orientadas a encontrar soluciones o mejorar la técnica para luego aplicarla *in-situ*, tales como:

- Por ejemplo, en la Universidad de la Frontera, el Dr. Pablo Cornejo dirigió el proyecto denominado “Diversidad de las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares en suelos afectados por la actividad minera del cobre: Estudio de su tolerancia a metales pesados *in vivo* e *in vitro*”, el cual se encuentra en una primera etapa, de identificación de hongos micorrízicos que permitan establecer una cobertura vegetal en suelos contaminados gracias a la acción protectora que ofrecen las micorrizas a las plantas. Esta prospección de micorrizas se realizó en Puchuncaví. La investigación se considera como la base para posteriormente aplicar la técnica en campo (Universidad de la Frontera, 2008).
- Paralelamente al desarrollo de la presente tesis doctoral, se desarrollaron en el área de Puchuncaví-Quintero, tesis de postgrado orientadas a la fitoestabilización, probando, en ensayos *ex-situ* e *in-situ*, diferentes especies y enmiendas para la inmovilización de los contaminantes:
- En condiciones controladas, se probó la capacidad de la mica (Na<sub>2</sub>-mica) para reducir la biodisponibilidad de cobre en los suelos de Puchuncaví. Se postuló a este mineral como coadyuvante para la fitoestabilización de suelos con gramíneas. La mica disminuyó la absorción de cobre y aumentó la biomasa radical de la gramínea (Stuckey et al., 2008). También en condiciones controladas se probó el efecto del encalado y adición de N sobre la emergencia y desarrollo de *O. picensis* (antes catalogada como *O. affinis*) cultivada en suelos de Puchuncaví. Se demostró que la adición de cal permitía a la especie sobrevivir en un 100% en comparación al control en el que no hubo sobrevivencia. La adición de cal + nitrógeno aumentó la concentración de cobre en la biomasa aérea de la especie, sin afectar su biomasa (Muena et al., 2010). Otro ensayos controlados demostraron que la adición de compost + cal permitía aumentar significativamente la producción de biomasa

en *Lolium perenne* cultivado en suelos de Puchuncaví (Goecke et al., 2011). Si bien estas dos últimas investigaciones se realizaron en búsqueda de enmiendas para la fitoestabilización, también podrían ser de utilidad para la fitoextracción.

- En ensayos *in-situ* se probó el efecto del compost, encalado, y compost+encalado, sobre la inmovilización de metales y el desarrollo vegetal. Se evaluaron especies presentes en el área de estudio, tanto en zonas contaminadas y no contaminadas, y se probó la revegetación espontánea y asistida. Se comprobó que la incorporación de materia orgánica aumentó considerablemente la producción de biomasa de diversas especies y que no hubo diferencias entre revegetar en forma asistida o espontánea. Las concentraciones de Cu, Zn, Pb y As en todas las especies fueron bajas, cercanas a las normales (Córdova et al., 2011; Ulriksen et al., 2012).

#### 2.2.1.2. Fitoestabilización de tranques de relave

La mayor proporción de los proyectos de investigación y aplicación de la fitoestabilización son aplicados a tranques de relave (ej., Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM) y Corporación de Fomento a la Producción, 2007; Zafiro consultoría, 2012). En los últimos años ha aumentado el número de experiencias en fitoestabilización de tranques de relave, dado que la legislación obliga a las empresas mineras a realizar un plan de cierre de relaves, el cual puede ser sólo físico o incluir, de preferencia, la revegetación de la zona afectada (Figura 26). Conociéndose las ventajas y la factibilidad de realizar fitoestabilización, muchas de estas empresas han incluido la técnica dentro de sus planes de cierre de tranques de relaves (Por ej.; Empresa Nacional de Minería, 2011; Mesas de trabajo Valle Alto, 2014; Consejo minero, 2012).



**Figura 26. Arriba: Vivero ubicado en la localidad rural de Cuncumén, donde fueron cultivadas 11 especies para la reforestación del tranque Los Quillayes, comuna de Salamanca; Abajo: Vista panorámica de las 30 hectáreas de fitoestabilizado a un año de la plantación de sus primeras especies**

Fuente: Mesas de trabajo Valle Alto, 2014



Se deben distinguir estos proyectos de fitoestabilización de aquellos de forestación, que solamente agregan una capa de suelo al relave y plantan especies comunes. La reforestación de tranques de relave por lo general da resultado solo durante un tiempo; sin embargo, a la larga fracasan ya que las raíces de las plantas alcanzan el nivel del material contaminante y mueren por toxicidad (Innova minería, 2007a). Los principales proyectos de fitoestabilización aplicada *in situ* en el país se resumen a continuación:

- Enami fue pionera, iniciando en 1998 la aplicación de la técnica en su planta Manuel Antonio Matta, en Copiapó. Para ello, utilizaron especies tolerantes, entre las cuales, las que dieron mejores resultados fueron *Acacia cyanophylla* (aromo azul), *Schinus molle* (pimiento), *Casuarina equisetifolia* (casuarina), *Acacia melanoxylon* (aromo australiano), *Cupressus macrocarpa* (ciprés macrocarpa) y *Prosopis atacamensis* (algarrobo del norte). El año 2008, un 75% de los árboles plantados se desarrollaban en buenas condiciones (1219 individuos), lo que ha permitido el surgimiento de vegetación secundaria y la presencia de animales silvestres (Empresa Nacional de Minería (ENAMI), 2011).
- Claudia Ortiz, investigadora de la USACH, junto a ENAMI III región, realizaron un trabajo de identificación de especies tolerantes en tranques de relave en Chuquicamata. Estas especies fueron posteriormente probadas en un área de 75 metros cuadrados, escogiéndose las más eficientes para la estabilización, las que serían probadas en un área de 1000 m<sup>2</sup>, en una segunda etapa del proyecto (Rosende, 2007). Según indican medios de prensa, esta iniciativa se logró llevar posteriormente a cabo utilizando especies del género *Baccharis*, *Atriplex* y *Phragmites australis*, en combinación con microorganismos endémicos (Fundación Imagen de Chile, 2014).
- El Centro de Investigaciones Mineras y Metalúrgicas, junto con el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, financiados por CORFO (Corporación de Fomento de la Producción), realizó un proyecto de gran envergadura para la fitoestabilización de tranques de relave en la IV región. La iniciativa buscaba encontrar la mejor combinación entre especies tolerantes-excluyentes y mejoradores de suelo, para estabilizar relaves de la región. En una primera etapa se prospectaron especies tolerantes y en una segunda etapa se realizaron pruebas piloto en los relaves Panucillo y La Cocinera. Finalmente se elaboraron guías metodológicas para la fitoestabilización de relaves (Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM) y Corporación de Fomento a la Producción, 2007; Innova minería, 2007b).
- En diciembre del 2008, CODELCO y la Universidad de Santiago de Chile USACH, sellaron un acuerdo para desarrollar un proyecto de fitoestabilización de tranques de relave a través de la plantación de especies vegetales. Una iniciativa pionera en el Norte Grande desarrollada gracias al aporte del Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico y Codelco Norte. El proyecto se denominó “Desarrollo de tecnología para la estabilización estructural y mitigación de efectos ambientales derivados de tranques de relaves” y en ella se utilizaron especies nativas y especies tolerantes introducidas, como el vetiver (Área Minera, 2008).
- Desde el año 2005, la Fundación Chile ha estado experimentando en la

fitoestabilización en cinco tranques de relave de la zona central:

- Nueva Pudahuel, en Lo Aguirre, donde existen pilas de lixiviación
- Nueva Pudahuel La Africana, Santiago, donde existe un tranque de relave fuera de operación
- Codelco Andina tranque Piuquenes, en Los Vilos, fuera de operación
- Angloamerican El Soldado, en Nogales, tranque fuera de operación.

Esta investigación está orientada a evaluar la capacidad del pasto vetiver grass (*Vetiveria zizanoide*), para colonizar y estabilizar tranques de relave en Chile. La propuesta pretende proponer a esta especie como la candidata ideal para la fitoestabilización de tranques de relave en el país. Los resultados muestran que la planta es capaz de establecerse bien en la mayoría de los casos, teniendo porcentajes de establecimiento entre 10 y 96%. Las plantas tuvieron resultados menos favorables a alturas sobre 2.500 y en sectores de alta temperatura estival (+ de 35°C en la Africana) (Fonseca et al., 2006).

- La División CODELCO Norte, tuvo un proyecto piloto para la fitoestabilización del Tranque Talabre (Calama, segunda región) utilizando gramíneas tolerantes y especies endémicas de la zona (Corporación Nacional del Cobre (CODELCO) división CODELCO Norte, 2005).
- La minera Los Pelambres inauguró en el 2013, un proyecto con la comunidad para la fitoestabilización de 30 hectáreas del tranque Los Quillayes (400 Ha), implantando especies nativas, aumentando gradualmente la superficie a estabilizar (Antofagasta Minerals, 2013).
- Entre los años 2011 a 2013, el Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM) desarrolló un proyecto denominado “Metodología para mejorar la cobertura vegetal espontánea del tranque de relaves Cauquenes”, para la empresa CODELCO División El Teniente (Región de Bernardo O’Higgins) (Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, 2014). No existen más antecedentes del proyecto, en medios públicos.

## 2.2.2. Investigación y aplicación en fitoextracción de suelos

### 2.2.2.1. Investigación desarrollada en fitoextracción en el Chile

No se conocen aún iniciativas prácticas de ningún tipo, para la remediación de la gran superficie de suelos contaminados por cobre en el país mediante fitoextracción. El nivel de la investigación en este ámbito llega solo a investigaciones que se han centrado en la identificación de especies presentes en sitios con altas concentraciones de cobre, sin haberse establecido, para la mayoría, si son útiles para la fitoextracción u otra técnica de fitorremediación. Entre estas especies se cuentan: *Chenchrus echinatus*, *Erygerom berterianum*, *Mullinum spinokum*, *Nolana divaricata*, *Dactylium sp.*, *Anthemis cotula*, *Baccharis salicifolia*, *Argemone subfusiformis*, *Oenothera picensis*, *Verbascum thapsus*, *Schinus polygamus*, *Scirpus asper*, *rmeria maritima*, *Trisetum lasiolepis*, *Montiopsis potentilloides*, *Atriplex deserticola*, etc. La mayoría de las especies fueron identificadas en las cercanías de la Fundición Caletones, VI región, y en cercanías de minas de la región de Atacama (Bech et al., 2001; González et al., 2010; Ortiz et al., 2002; Ortiz-Calderón et al., 2008; Anic et al., 2010). La excepción la constituye la especie endémica *Mimulus luteus* var. *variegatus*, especie para la cual se realizaron ensayos de tolerancia en poblaciones

de distinto origen, encontrándose mayor tolerancia en la población proveniente de sitios contaminados, lo que evidenció un proceso de microevolución ante la presión de la contaminación (Ginocchio et al., 2002).

#### 2.2.2.2. Investigación desarrollada en el área de estudio: comunas de Puchuncaví y Quintero

Como se indicó en la sección introductoria, el área de estudio de esta tesis corresponde a las comunas de Puchuncaví y Quintero, en cuya zona limítrofe se ubica la Fundición de cobre Codelco-Ventanas, cuyas emisiones históricas han deteriorado la condición ambiental de los suelos y los ecosistemas circundantes. El área de estudio se describe en detalle en el Capítulo III.

Se han realizado muchas investigaciones en las cercanías de la Fundición Codelco-Ventanas, pero estas se orientaron a describir y analizar la situación de contaminación existente en relación a la contaminación atmosférica y otras tantas ponen en evidencia los efectos sobre los ecosistemas (ver sección 3.2.2) Hasta la realización de la presente tesis doctoral no se habían realizado investigaciones orientadas a solucionar la problemática de contaminación de suelos.

La iniciativa de la investigación asociada a la presente tesis, surgió recientemente de la misma empresa minera CODELCO-Ventanas, que previendo la futura generación de normativa para suelos y para la remediación de PAMs, quiso adelantarse a los hechos para contar de antemano con una alternativa tecnológica ya evaluada. Por esto, luego de una evaluación interna de alternativas tecnológicas, la empresa decidió financiar la investigación de la técnica de fitorremediación aplicada al área impactada por la Fundición. Para la concreción de esta búsqueda se estableció un convenio con la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, con el fin de que esta entidad desarrollara la investigación científica pertinente.

El equipo investigativo decidió evaluar en forma paralela las estrategias de fitoestabilización y la fitoextracción. Parte de esta tesis corresponde a la evaluación de la fitoextracción desarrollada en el marco de dicho proyecto. Las investigaciones paralelas, asociadas a la fitoestabilización se describieron en la sección 2.2.1.1.

Para la evaluación de la fitoextracción de cobre, se estableció que el primer paso debía ser la búsqueda de especies adecuadas. Para esto, durante el período 2006-2007 se realizó en el sector de Los Maitenes una prospección de especies acumuladoras de cobre. Con apoyo de un especialista botánico, se muestrearon todas las especies herbáceas y arbustivas que se identificaron en un sector de matorral típico de la zona, procediéndose posteriormente al análisis elemental de sus tejidos (biomasa aérea y raíces), en laboratorio (González et al., 2008).

Producto de esta investigación, se identificaron las especies con potencial para la fitoextracción, entre ellas la más promisoría *O. picensis*, ya que presentó hasta 600 mg/kg de Cu en su parte aérea, produciendo una gran biomasa a partir de su primer año de vida, es una planta hemicriptófita (subperenne) y muy resistente a la sequía. También se destacaron *Argemone subfusiformis* y *Baccharis linearis* por su alta acumulación de cobre (391 y 314 mg/kg respectivamente) y su alta producción de biomasa. A pesar de las buenas condiciones de estas especies, los cálculos indicaban que en suelos altamente contaminados en la zona de Los Maitenes serían necesarios entre varias décadas e incluso siglos de ciclos de cultivo para lograr

descontaminarlos satisfactoriamente hasta concentraciones cercanas a lo normal<sup>14</sup>, lo que lo convierte en una técnica no factible de aplicarse aisladamente en estrategias de remediación. Es por esto que surgió la idea que se desarrolla en la presente tesis, para mejorar la eficiencia del proceso de fitoextracción, evaluando métodos probados internacionalmente, con el fin de identificar aquellos que dieran mejores resultados para las especies y los suelos estudiados, y así lograr reducir el tiempo necesario para la descontaminación de los suelos del sector, obteniéndose una técnica eficiente.

### **2.3. La oportunidad que ofrece la fitorremediación en Chile en el contexto socio-político actual**

En los países desarrollados, la investigación de la fitorremediación se encuentra altamente avanzada, habiéndose desarrollado ya una etapa de investigación aplicada y encontrándose actualmente en una etapa de empresarización de los resultados, existiendo numerosas empresas dedicadas a este rubro. En contraste, en Chile la investigación en el tema de la fitorremediación no supera los diez años, y la investigación aplicada, no lleva más de cinco, estando restringida principalmente a la fitoestabilización de tranques de relave. La fitoextracción prácticamente no se ha evaluado.

La temática de la fitorremediación en el país tiene un gran potencial, debido a la gran cantidad de relaves y suelos contaminados que existen en forma de pasivos ambientales dejados por la actividad minera. Además, la dinámica de la legislación ambiental pronto llevará a la generación de normativas de calidad de suelos, lo que hará aún más necesaria la existencia de métodos de remediación probados y de preferencia poco invasivos y económicos, es decir, sostenibles. En el ámbito del ordenamiento territorial, ya desde los años 90' se discute la transición hacia la planificación "ambientalmente sustentable", el cual entre sus principios considera la mantención de zonas de "recuperación ambiental" tanto en áreas rurales como urbanas (Werner et al., 1995) donde exista restricciones de uso y se permitan y fomenten procesos de remediación ambiental.

Como se puede concluir, las socio-políticas condiciones actuales son ideales para la adopción, adecuación y desarrollo de la fitorremediación en el país.

---

<sup>14</sup> El número de ciclos necesarios para descontaminar un suelo varía entre 50 y 350 años para *O. picensis*; entre 85 y 700 años para *B. linearis*; entre 140 y 660 años para *A. Subfusiformis*, dependiendo del grado de contaminación inicial del suelo (30 a 130 mg/kg de Cu disponible, 500 a 1300 mg/kg de Cu total) y considerando como meta de descontaminación el Cu disponible en suelos normales (promedio 0,95 mg/kg)

## 2.4. Bibliografía específica

Aguilar, J., Donrronsoro, C., Fernández, C., Fernandes, J., García, I., Martín, F., Ortiz, I. & Simón, M. (2010). Vertido pirítico en Aznalcollar (Doñana). Universidad de Granada. Disponible: <http://edafologia.ugr.es/donana/aznal.htm> [2010, 20 de noviembre].

Alvarenga, P., Gonçalves, A., Fernández, R., Varennes, A., Vallini, G., Duarte, E. & Cunha-Queda, A. (2008). Evaluation of compost and liming material in the phytostabilization of a mine soil using perennial ryegrass. *The Science of the Total Environment*, 406, 43-56.

Antofagasta Minerals. (2013). Minera Los Pelambres y la comunidad inauguran su proyecto de Fitoestabilizado para tranque de relave. Las Condes, Chile. Disponible: <http://aminerals.cl/2013/05/08/minera-los-pelambres-y-la-comunidad-inaugura-su-proyecto-de-fitoestabilizado/> [2015, 23 de agosto].

Área Minera. (2008). Millonario Proyecto Ambiental Desarrollan en Talabre, [artículo on-line]. Revista Área Minera. Disponible: [http://www.aminera.cl/index.php?option=com\\_content&task=view&id=14052&Itemid=2](http://www.aminera.cl/index.php?option=com_content&task=view&id=14052&Itemid=2).

[2008, 15 de octubre].

Bernal, M., Clemente, R., Vásquez, S. & Walker, D. (2007). Aplicación de la fitorremediación a los suelos contaminados por metales pesados en Aznalcóllar. *Ecosistemas*, 16, 1-14.

Bech, J., Poschenrieder, C., Barceló, J. & Lansac, A. (2001). Plants from mine spoil in the South American area as potential source of germplasm for phytoremediation technologies. In *Proceedings of the Phytoremediation Conference*, Leipzig, Germany.

Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM), Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) & Corporación de Fomento a la Producción (CORFO). (2007). Productos Proyecto: Uso de recursos fitogenéticos nativos para la fitoestabilización de relaves mineros en la región de Coquimbo. Ginocchio, R, León, P. Disponible: [www.fitoestabilizacion.cl](http://www.fitoestabilizacion.cl) [2008, 19 de Septiembre].

Centro de Investigación Minera y Metalúrgica (CIMM). (2014). "Proyectos". CIMM. Vitacura, Chile. Disponible: <https://sites.google.com/site/fitotoxicidadyfitorremediacion/fitorremediacionproyectos> [2016, 5 de julio].

Chi Yin, S. (2014). After "Cadmium Rice" now "Lead" and "Arsenic Rice". A farmer works her land near a lead smelter in Hunan Province [Imagen]. *The New York Times*, USA. Disponible en: [http://sinosphere.blogs.nytimes.com/2014/04/25/after-cadmium-rice-now-lead-and-arsenic-rice/?\\_r=0](http://sinosphere.blogs.nytimes.com/2014/04/25/after-cadmium-rice-now-lead-and-arsenic-rice/?_r=0).

Córdova, S., Neaman, A., González, I., Ginocchio, R. & Fine, P. (2011). The effect of lime and compost amendments on the potential of the revegetation of metal-polluted, acidic soils. *Geoderma*, 166, 135-144.

Consejo minero. (2012). Programa de Reforestación con especies vegetales

nativas en el Sistema de Tranques de Relaves el Rahco. Las Condes, Chile. Disponible: <http://www.consejominero.cl/buena-practica-de-la-gran-mineria-kinross-programa-de-reforestacion-con-especies-vegetales-nativas-en-el-sistema-de-tranques-de-relaves-el-rahco/> [2015, 23 de agosto].

Corporación Nacional del Cobre (CODELCO) división CODELCO Norte. (2005). Proyecto Piloto de Fitorremediación del Tranque Talabre [Power point]. Santiago, Chile: Universidad de Santiago de Chile. XIV Simposium de Ingeniería en Minas.

Deutsche Welle (DW). (2006). A Flowering Future for Old East German Uranium Mines. Disponible: <http://www.dw.com/en/a-flowering-future-for-old-east-german-uranium-mines/a-2288281> [2015, 21 de agosto]

Empresa Nacional de Minería (ENAMI). (2011). Exitosa fitoestabilización de relaves. ENAMI. Santiago, Chile. Disponible: <http://www.enami.cl/sala-de-prensa/exitosa-fitoestabilizacion-de-relaves.html> [2015, 23 de agosto].

Fonseca, R., Díaz, C., Castillo, M., Candia, J. & Truong, P. (2006). Uso de Vetiver grass para la rehabilitación de sitios mineros en Chile: resultados preliminares (Informe de proyecto). Santiago, Chile. The Vetiver Network International y Fundación Chile.

Foye, D. (2001). Mobility and extraction potential of lead from impacted rifle range soil using *Pisum sativum* and *Brassica juncea*. Tesis para el grado de Master en Ciencias. Universidad de Queens. Kingston, Ontario, Canadá. 140 pp.

Fundación Imagen de Chile. (2014, Septiembre el 2008). Investigadora chilena desarrolla inédita tecnología basada en plantas para contrarrestar efectos de la industria minera. Imagen de Chile. Santiago, Chile. Disponible: <http://www.imagendechile.cl/investigadora-chilena-desarrolla-inedita-tecnologia-basada-en-plantas-para-contrarrestar-efectos-de-la-industria-minera/> [2016, 4 de julio].

Ginocchio, R., Toro, I., Schnepf, D. & Macnair, R. (2002). Copper tolerance testing in populations of *Mimulus luteus* var. *variegatus* exposed and non-exposed to copper mine pollution. *Geochemistry, Exploration, Environment, Analysis*, 2(2), 151-156.

Goecke, P., Ginocchio, R., Mench, M. & Neaman, A. (2011). Amendments promote the development of *Lolium perenne* in soils affected by historical copper smelting operation. *International Journal of Phytoremediation*, 13(6), 552-566.

González, I., Muena, V., Cisternas, M. & Neaman, A. (2008). Acumulación de cobre en una comunidad vegetal afectada por contaminación minera en el valle de Puchuncaví, Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural*, 81, 279-291.

González, I., Cisternas, M., Kelm, U. & Neaman, A. (2010). Metalófitas en El Teniente y su potencial para la remediación de suelos contaminados por cobre. *Ciencia Ahora (Chile)*, 25, 29-35.

Hamberg, R. (2009). In situ and on-site soil remediation techniques. Bachelor. Department of Civil and Environmental Engineering, Lulea University of Technology, Suecia 45 pp.

Innova minería. (2007a). Fitoestabilización de relaves: Metales atrapados en una raíz. Disponible: <http://www.innovamineriacoquimbo.cl/contenidos.phtml?seccion=4&contenido=1541> [2010, 19 de diciembre].

Innova minería. (2007b). Fitoestabilización de tranques de relaves en Chile: un aporte al cierre de desechos mineros masivos. Disponible: <http://www.innovamineria.cl/contenidos.phtml?contenido=2218&seccion=3#> [2010, 19 de diciembre].

Kikuchi, R., Gorbacheva, T. & Gerardo, R. (2006). A pilot-scale example of phytoremediation in the arctic area: comparison of zones placed at different distances from a metal emission source. *Environmental Biotechnology*, 2, 37-45.

Kolbas, A., Mench, M., Herzig, R., Nehnevajova, E. & Bes, C. (2011). Copper phytoextraction in tandem with oilseed production using commercial cultivars and mutant lines of sunflower. *International Journal of Phytoremediation*, 13, 55-76.

Mesas de Trabajo Valle Alto. (2014). Proyecto de fitoestabilización: historia de un proceso participativo. Cuncumén, Chile. Disponible: <http://www.mesaquillayes.cl/2014/10/proyecto-de-fitoestabilizacion-historia-de-un-proceso-participativo/> [2015, 23 de agosto].

Muena, V., González, I. & Neaman, A. (2010). Efectos del encalado y la fertilización nitrogenada sobre el desarrollo de *Oenothera affinis* en un suelo afectado por la minería del cobre. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(2), 102-114.

Murakami, M., Nakagawa, F., Ae, N., Ito, M. & Arao, T. (2009). Phytoextraction by Rice Capable of Accumulating Cd at High Levels: Reduction of Cd Content of Rice Grain. *Environmental Science & Technology*, 43(15), 5878-5883.

Ortiz, C., Kao, L. I. & S, Orellana. (2002). Acumulación y tolerancia a Cu<sup>++</sup> en una gramínea silvestre: potencial de uso en fitorremediación. *Biological Research*, 35, R-93.

Ortiz-Calderón, C., Alcaide, Ó. & J, Kao. (2008). Copper distribution in leaves and roots of plants growing on a copper mine-tailing storage facility in northern Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 81, 489-499.

Rosende, M. (2007). Fitorremediación: Una técnica que disminuye la contaminación de las mineras de cobre, [Revista on-line]. Universidad de Santiago de Chile. Disponible: [www.vrid.usach.cl/pub](http://www.vrid.usach.cl/pub) [2008, 13 de diciembre].

Russian Foundation for Basic Research. (2010). Theoretical principles and methods of remediation of soils polluted with heavy metals. Moscow, Rusia. Disponible: <http://eco.soil.msu.ru/remediation/> [2016, 3 de julio de 2016].

Stuckey, J., Neaman, A., Ravella, R., Komameni, S. & Martínez, C. (2008). Highly charged swelling mica reduces Cu bioavailability in Cu-contaminated soils. *Environmental Pollution*, 157(1), 12-16.

Ulriksen, C., Ginocchio, R., Mench, M. & A, Neaman. (2012). Lime and compost promote plant re-colonization of metal polluted, acidic soils. *International Journal of Phytoremediation*, 14, 820-833.

Universidad de la Frontera. (2008). FONDECYT UFRO mejora suelos degradados. Universidad de la Frontera. Disponible: [http://www.ufro.cl/investigacion/nota\\_mejora\\_suelos.htm](http://www.ufro.cl/investigacion/nota_mejora_suelos.htm) [2008, 9 de marzo].

United States Environmental protection Agency (2012). Phytotechnologies for site cleanup. Fact Sheet N°4. U. S. EPA. Washington DC, USA. 12 pp.

Vamerali, T., Bandiera, M. & Mosca, G. (2011). In situ phytoremediation of arsenic and metal polluted pyrite waste with field crops: effects of soil management. *Chemosphere* 83: 1241-48. Print.

Werner, G., Bemmerlein-Lux, F., Integration Environment & Energy & Zúñiga, M. (1995). Ordenamiento Territorial y Planificación Ambiental en Chile,. Santiago, Chile. 73 pp.

Willscher, S., Mirgorodsky, D., Jablonski, L., Ollivier, D., Merten, D., Büchel, G., Wittig, J. & Werner, P. (2013). Field scale phytoremediation experiments on a heavy metal and uranium contaminated site, and further utilization of the plant residues. *Hydrometallurgy*, 131–132, 46-53.

Zafiro Consultoría. (2012). Nueva tecnología para el tratamiento de riles y tanques de relaves mineros ad portas del mercado. Zafiro Consultores. Providencia, Chile. Disponible: <http://www.zafiroconsultoria.cl/varios/nueva-tecnologia-para-el-tratamiento-de-riles-y-tanques-de-relaves-mineros-ad-portas-del-mercado/> [2015, 23 de agosto].





**CAPÍTULO III**  
**AREA DE ESTUDIO: CONTAMINACIÓN POR COBRE EN LA**  
**COMUNA DE PUCHUNCAVÍ Y QUINTERO, REGIÓN DE**  
**VALPARAÍSO, CHILE CENTRAL**

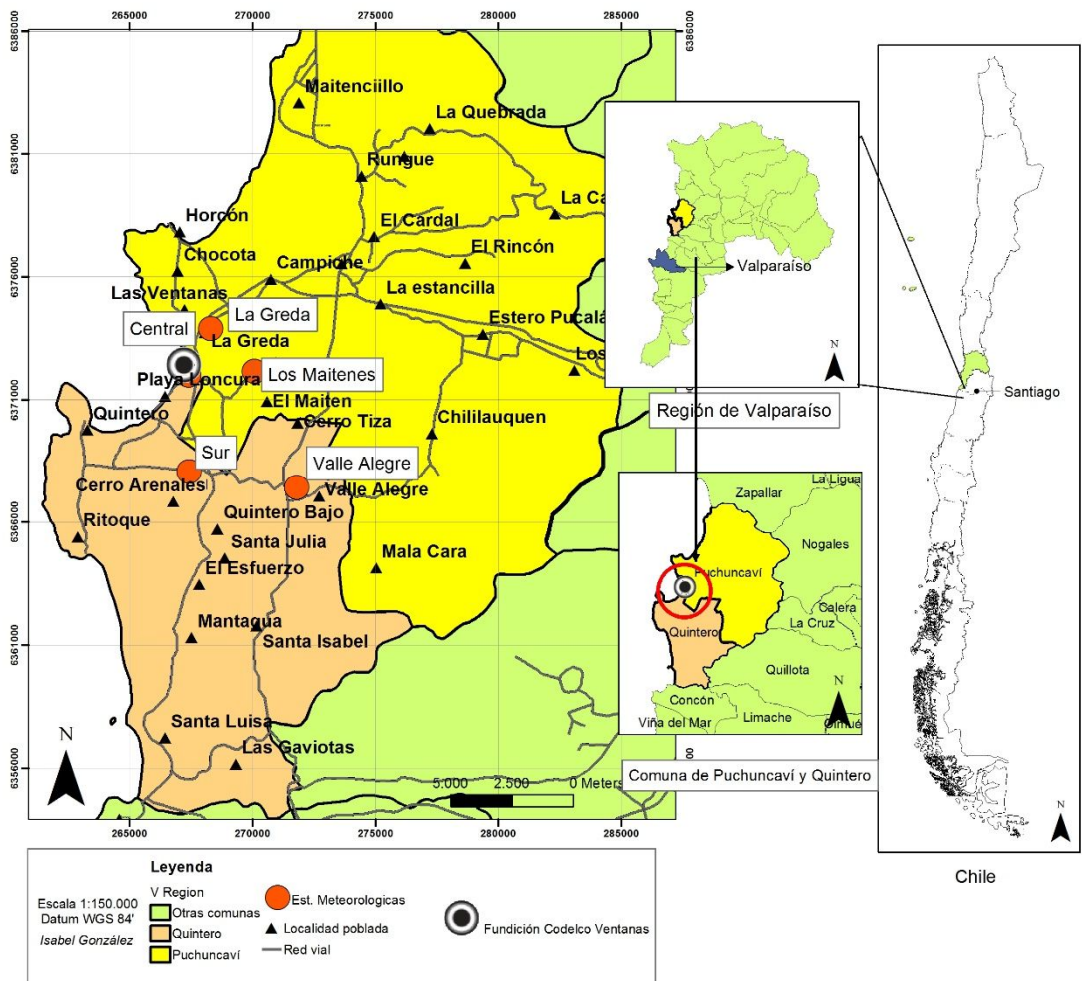


Este capítulo se divide en dos secciones. En la primera, se describe el paisaje de las comunas de Puchuncaví y Quintero, en cuyo límite se ubica la Fundición CODELCO Ventanas. Se abarcan aspectos socioeconómicos, administrativos y ecológicos de las comunas. En la segunda parte del capítulo, se describe la situación actual de la contaminación en el área de estudio, el origen de la contaminación y el área de impacto, y los efectos en las diferentes matrices ambientales, enfocándose principalmente en los efectos sobre el suelo.

### **3.1. El paisaje de Puchuncaví y Quintero**

#### **3.1.1. Ubicación administrativa y características generales**

Las comunas de Puchuncaví y Quintero se ubican en la región de Valparaíso (zona central del país), en la Provincia de Valparaíso, en la zona costera (Figura 27), al norte de la conurbación que forman Valparaíso, Viña del Mar y Concón. Este territorio se denomina litoral norte de la región de Valparaíso, conformado por Quintero, Puchuncaví, Zapallar y Papudo. Estas comunas se encuentran a 160 km de Santiago, capital del país, y a 45 km de Valparaíso, capital regional. Limitan con las comunas de Con-Con (S), Petorca (N), Nogales (NE), La Cruz (centro-E) y Quillota (SE). Las principales rutas de acceso son, por el sur la Ruta costera F-30 E, la Carretera 5 Norte (vía Catapilco), y por el norte el camino Nogales- Puchuncaví (F-20) (Turismo Chile, 2008; Verdejo & Fernández, 2006).



**Figura 27. Ubicación de las comunas de Puchuncaví y Quintero a nivel nacional y regional y ubicación de la Fundación y las estaciones meteorológicas de CODELCO Ventanas.**

Fuente: elaboración propia en base a datos proporcionados por CODELCO

### 3.1.2. Características demográficas y político-administrativas

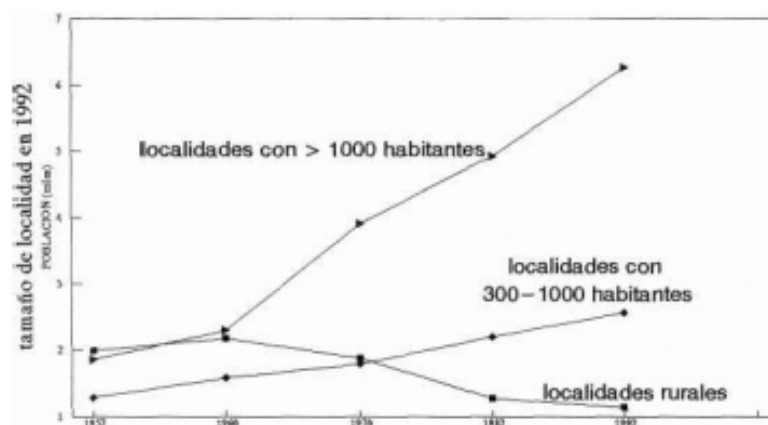
- Puchuncaví

La comuna tiene una superficie de 317 km<sup>2</sup> (31.765 hectáreas) y cuenta, según el último censo (2002), con 13.000 habitantes (INE, 2002). Tiene una densidad de población de 43 hab./km<sup>2</sup>, muy baja comparada con la capital regional (433 hab./km<sup>2</sup>). Las principales actividades son la industrial, la pesca artesanal, los servicios turísticos y la agricultura. La actividad industrial pasó a ser una actividad preponderante a partir de la década de los 60'. Previo a esta fecha, la actividad mayoritaria en la comuna era la agricultura, actividad que posteriormente disminuyó bruscamente (Malman et al., 1995).

Puchuncaví cuenta con 22 localidades, distribuidas en 8 distritos: Puchuncaví, Laguna, Las Melosillas, La Canela, San Antonio, Pucalán, Campiche y La Greda. La principal localidad es Ventanas, en el distrito de Campiche, donde se ubica la Fundación CODELCO. Esta localidad aloja al 21% de la población comunal, debido a la concentración de población alrededor de la actividad industrial (CODELCO

VENTANAS, GENER, GASMAR, COPEC y OXIQUM). También son importantes y adquieren día a día más relevancia los balnearios de Maitencillo (distrito La Laguna) y Horcón (distrito de Campiche). Otros sectores de la comuna son: La Greda, Campiche, Los Maitenes, San Ramón, Las Melosillas, Rungue entre otros (Malman, et al., 1995; Instituto Nacional de Estadísticas, 2008).

El poblamiento alrededor de la actividad industrial ha provocado un aumento en el tiempo de la población urbana y una disminución de la rural, aunque parte de la población industrial proviene de otras comunas. En la década de los 50's un 88% de la población de Puchuncaví era rural. Actualmente, del total de la población comunal, un 86% es urbana y sólo un 14% rural (Instituto Nacional de Estadísticas, 2008). Esta migración a sectores urbanos se hizo patente desde el inicio del funcionamiento de CODELCO-Ventanas y Gener (en los 60's, Figura 28). Un claro ejemplo de despoblamiento rural es el caso de Los Maitenes, donde la población hacia 1960 era de 410 personas, y en el Censo de 1992 era sólo de 171. Las causas de la emigración en esta localidad se atribuyen mayormente a la contaminación generada por la actividad industrial, la cual hizo perder la actividad agrícola, obligando a los pobladores a buscar trabajo en el sector industrial o en actividades derivadas de ésta. Sin embargo, se debe reconocer que se carece de datos empíricos estadísticamente significativos para afirmar esto y, por otro lado, es inevitable reconocer que también existe un efecto del proceso generalizado en el país de pérdida de población rural, ya que el despoblamiento también existe en otras localidades no impactadas por la industria, aunque en menor escala (Malman, et al., 1995).



**Figura 28. Evolución de la población en la comuna de Puchuncaví, según tamaño de la localidad.**

Fuente: Malman et al., 1995

En cuanto a la economía comunal, según la encuesta CASEN el 7% de la población de la comuna es clasificada como pobre<sup>15</sup> y un 12% como indigente<sup>16</sup> (ambos suman menos que el promedio regional de 17%). La comuna exhibe un 8% de cesantía (Biblioteca del Congreso Nacional de Chile, 2012a).

<sup>15</sup> El valor de la Línea de Pobreza se define como aquellos hogares cuyos ingresos per cápita se encuentren están en condiciones de satisfacer sus necesidades alimentarias pero no el conjunto de necesidades básicas, y se definen como "pobres no indigentes". El valor de la línea de indigencia es de \$43.712 en zonas urbanas y de \$29.473 en zonas rurales (MIDEPLAN, 2006)

<sup>16</sup> Se definen como indigentes a las personas que residen en hogares cuyo ingreso per cápita es inferior al valor de la canasta alimentaria mensual per-cápita. Al 2003 el valor de la línea de indigencia era de \$21.856 en zonas urbanas y de \$16.842 en zonas rurales (MIDEPLAN, 2006)

## Quintero

La comuna de Quintero tiene una superficie de 149 km<sup>2</sup> (14.925 hectáreas) y cuenta con una población de 21.174 habitantes. Un 12% de la población es urbana y el 88% rural. Geográficamente está dividida en tres distritos: Quintero urbano (sector turístico), Valle Alegre (valle interior) y Dumuña. Las principales localidades son Quintero y la playa Loncura, las únicas localidades urbanas, y Valle Alegre, localidad rural caracterizada por sus parcelaciones para casa de agrado. Otras localidades son Ritoque, Quintero Bajo, Santa Julia, Mantagua, San Ramón, entre otras (Verdejo & Fernández, 2006; Instituto Nacional de Estadísticas, 2008).

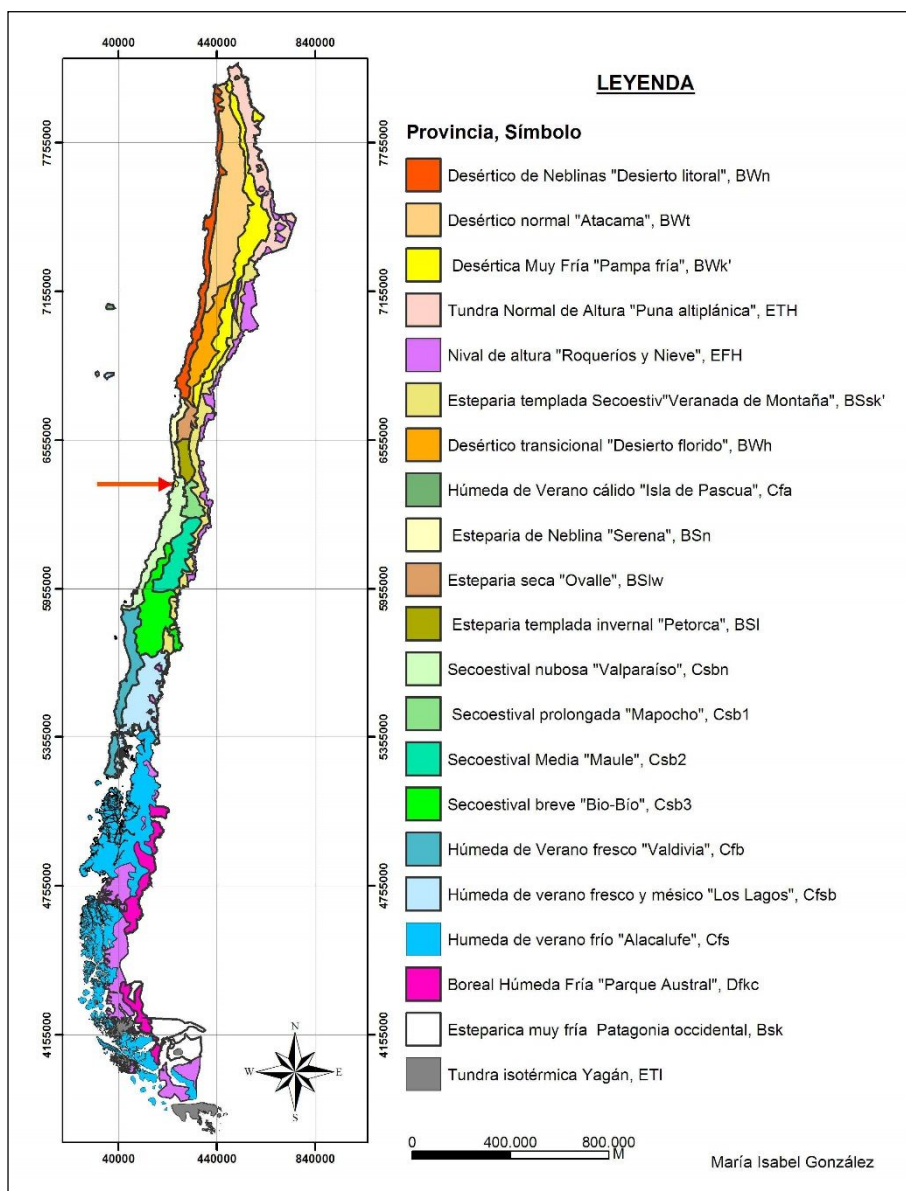
La actividad principal en la comuna es la construcción (30% de la población), los alquileres (12% de la población, debido a alquileres de verano) y la industria manufacturera no metálica (11% de la población). La pesca es la actividad más emblemática, constituyendo la forma de vida de gran parte de la población, aunque se ve mermada en invierno. Existen algunas flotas pesqueras y varias caletas que abastecen a las ciudades vecinas y a las industrias procesadoras de productos del mar. En la actividad agrícola, la producción de frutas para exportación y para consumo interno es importante, también destaca la producción de hortalizas y cereales (11.500 explotaciones agrícolas, solo un 1% del total regional). Por otro lado, Quintero, es una comuna que en verano desarrolla todo su potencial turístico con excelentes playas, residenciales, hoteles, restaurantes, pubs, y ferias de artesanías (Biblioteca del Congreso Nacional de Chile, 2012b).

En relación a los niveles económicos, un 13% de la población se clasifica como pobre, mientras un 5 es indigente (en total, más alto que el promedio regional de 17%). Existe un 11% de cesantía en la comuna (Biblioteca del Congreso Nacional de Chile, 2012b).

### 3.1.3. Clima

#### 3.1.3.1. Clima de la zona costera de la región de Valparaíso

Las clasificaciones climáticas a nivel nacional indican que la región está bajo el dominio de un clima “templado cálido con lluvias invernales” o lo que corresponde a una provincia climática “Secoestival nubosa” (Figura 29). Esta clasificación indica que la zona se caracteriza por una estación seca prolongada y gran nubosidad, que es el que se presenta en toda la costa de la región, haciéndose sentir incluso hacia el interior, a través de los valles. Dicho clima está determinado por corrientes marinas frías que barren las costas y los vientos del mar que moderan las temperaturas. Como consecuencia, poseen poca diferencia de temperatura durante el año y en general, son zonas de moderadas lluvias de invierno (465 mm desde mayo-octubre) y sequía en verano. Este clima se caracteriza por una media en verano de 20°C y de 15°C en invierno. También se caracteriza por débiles oscilaciones térmicas diarias y anuales, además de altos valores de humedad relativa (65% en verano) (Dirección Meteorológica de Chile, 2008; Gastó et al., 1990).



**Figura 29.- Ubicación de la comuna de Puchuncaví (flecha roja) en carta de ecorregiones de Chile basada en provincias climáticas de Köppen**

Fuente: elaboración propia en base a Gastó *et al.*, 1990; Köppen, 1923

### 3.1.3.2. Caracterización meteorológica del área de estudio

CODELCO Ventanas cuenta con 5 estaciones meteorológicas ubicadas en las cercanías de la Fundición (Figura 27). La estación meteorológica Central está ubicada a 0,5 kilómetros al SO de la Fundición. En base a la información obtenida de dicha estación, se caracterizará el área de estudio.

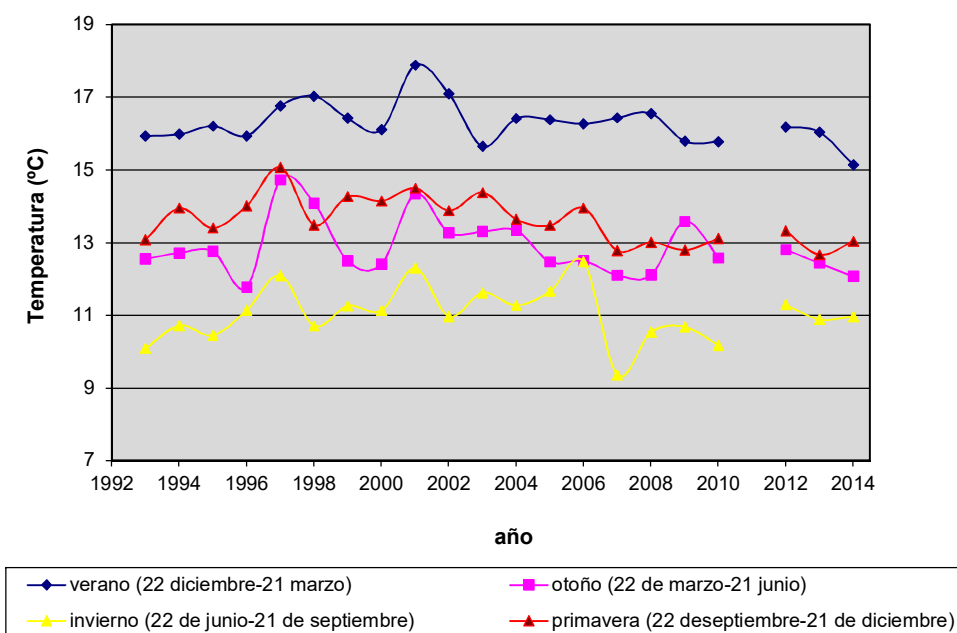
#### Temperatura

El gráfico de temperaturas anuales, desde 1993 al 2014, muestra las diferencias estacionales de temperatura (Figura 30). En general, se observa que existe poca amplitud térmica anual ( $5,1-8,2^{\circ}\text{C}^{17}$ ), lo que es producto de la influencia marina. Las temperaturas medias estacionales se han mantenido más o menos

<sup>17</sup> En relación a otros climas, por ejemplo el estepárico frío donde las oscilaciones térmicas bordean los  $13,3^{\circ}\text{C}$



similares a través de los años, a excepción de los años 1997 y 2001 en que se observan promedios estacionales más elevados de lo normal. En el año 2007 las temperaturas en invierno fueron más bajas de lo normal. Para el verano, el promedio de la serie 93-14 es de 16,3°C, para el otoño 12,9°C, para el invierno 11,1°C y para primavera 13,6°C. Las máximas temperaturas promedio diarias anuales en la serie oscilan entre 19 y 21°C en el período estival (enero-febrero), mientras las mínimas anuales oscilan entre 5 y 8°C en el período invernal (principalmente julio-agosto).



**Figura 30.- Variaciones anuales de temperatura estacional, entre los años 1993-junio 2014, en el área de estudio (no hay datos para el año 2011).**

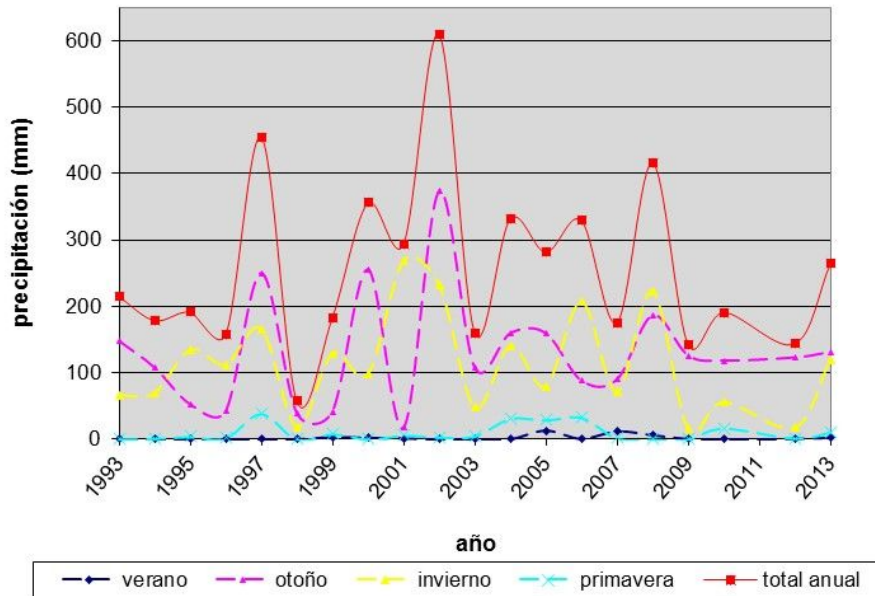
Fuente: elaboración propia en base a datos de estación meteorológica de CODELCO Ventanas

### Precipitaciones

Las precipitaciones en el área de estudio han sido muy variables en el período 1993-2014. En este período las precipitaciones anuales variaron entre 57 mm en el año más seco (1998) y 609 mm en el año más lluvioso (2002). El promedio de precipitaciones en el período es de 247 mm. Como se ve en la Figura 31, los meses de verano y primavera prácticamente no presentan precipitaciones. Estas se concentran en los meses de otoño e invierno, preferentemente en otoño (abril-julio). Esto es normal para un clima secoestival como el de la zona.

En general, el período 1993-2014 ha sido muy seco, considerando que el monto de precipitaciones anuales normales para el clima de la zona es de 465 mm, y que en 19 de los 21 años las precipitaciones anuales están bajo este valor.

Parte del déficit de lluvias se explica por el fenómeno de La Niña, que afectó al país los años 98-99, y también en el período 2007-2014, afectando severamente a la zona central. Los patrones de circulación atmosférica que explican estas deficiencias de lluvia en Chile están determinados por la persistencia de anomalías de circulación anticiclónica de latitudes medias y subtropicales, y un área de anomalías de circulación ciclónica en latitudes subpolares, impidiendo que el anticiclón vaya a la zona centro norte (Quintana, 1999).

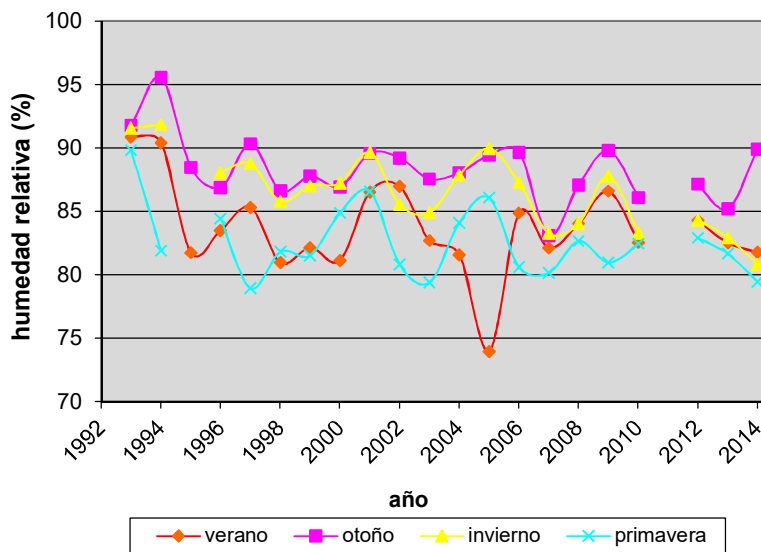


**Figura 31. Variación de las precipitaciones estacionales y anuales en el período 1993-junio 2013, en el área de estudio.**

Fuente: elaboración propia en base a datos de estación meteorológica de CODELCO Ventanas

#### Humedad relativa del aire

Los promedios estacionales de humedad relativa en el aire se han mantenido prácticamente constantes durante el período 1994-2008 (entre 79% y 91%), presentando altos valores durante todo el año, debido a la influencia costera, aunque son levemente más altos en el período otoño-invierno, como corresponde a un clima secoestival. Anterior a 1994, las humedades relativas eran mayores (82%-96%) durante todo el año. Existe un evento extraordinario en el verano del 2005, donde la humedad relativa bajó a solo 74% (Figura 32).



**Figura 32. Variación estacional de la humedad relativa en el período 1993-2008, en el área de estudio (no hay datos para el año 2011).**

Fuente: elaboración propia en base a datos de estación meteorológica Central de CODELCO Ventanas

## Vientos

El análisis de los vientos se realizó en base a datos de la estación meteorológica del año 2007, utilizando el Software WRPLOT, el cual permite un análisis en gráficas de rosas de los vientos.

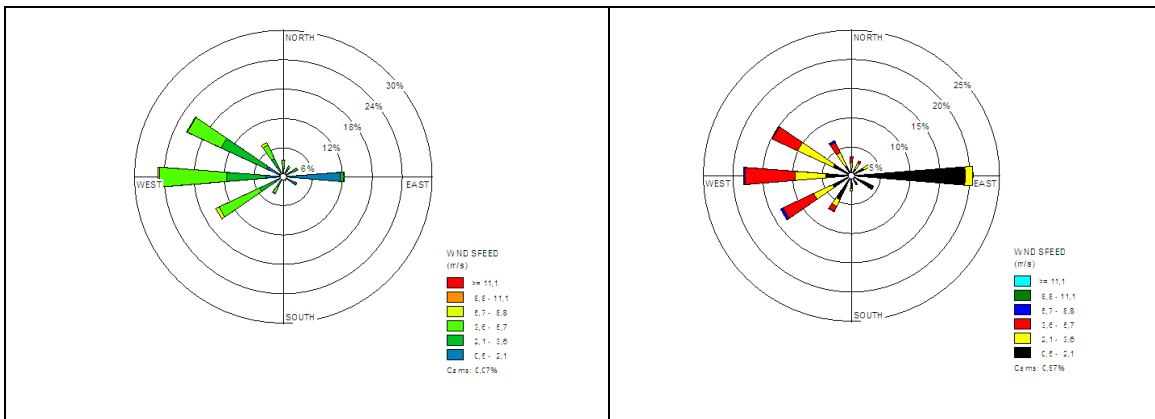
Se separaron las direcciones y velocidades de los vientos según estación y períodos día/noche. Se consideraron 4 direcciones primarias (E, O, N, S) y 8 secundarias (NNE, NNO, SSE, SSO, ONO, OSO, ESE, ENE).

En general, los vientos predominantes en el sitio de estudio van en dirección E (37%) y O (36%) (Figura 33). Sin embargo, las gráficas por temporada y horario permiten concluir que hay claras diferencias día/noche. Durante la noche la dirección predominante en todas las temporadas es este (Figura 33 b, d, f, h). Durante el día, la dirección predominante es al oeste, a excepción de los meses de otoño, donde la dirección predominante es este y en invierno al este-sureste (Figura 33 a, c, e, g). Un análisis más detallado permite concluir que los vientos cambian de dirección hacia el este, en los días donde se concentran las precipitaciones. Durante el 2007 las precipitaciones se concentraron en junio (otoño) y algunos días de julio y agosto (invierno), por esto la rosa de los vientos en otoño tiene predominancia de vientos al este (27%) y durante el invierno también hay un porcentaje de los vientos con esta dirección (14%).

En relación a las velocidades del viento, durante el día, las velocidades más altas se observan en verano y primavera (3,6 a 5,7 m/s). En otoño e invierno las velocidades son más bajas durante el día, fluctuando entre 0,5 a 3,6 m/s. Durante la noche, el viento tiene bajas velocidades (0,5-2,1 m/s) en todas las temporadas. Debido a la convección térmica, era esperable que las velocidades diurnas del viento fuesen mayores a las nocturnas (Ormeño et al., 2002).

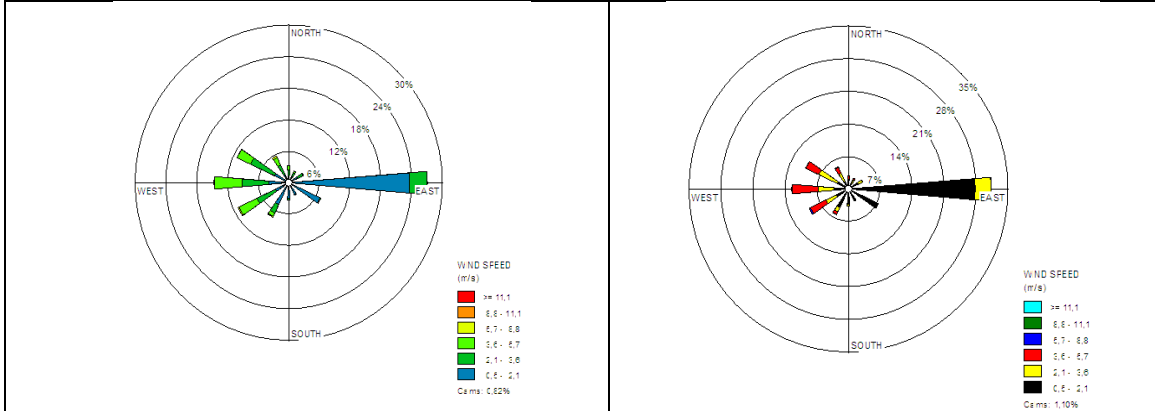
Las altas velocidades diurnas en los meses de primavera y verano, podrían indicar que los contaminantes alcanzan distancias mayores en dirección oeste; sin embargo, es difícil cuantificar esto, ya que al oeste solo se encuentra el océano. Durante la noche la dispersión ocurriría hacia el este, y por la menor velocidad del viento, se espera que los contaminantes se depositen cerca de la Fundición. En esta dirección se encuentra la localidad de Los Maitenes (Figura 27), históricamente la localidad más contaminada por la Fundición, lo que corrobora los datos obtenidos. Sin embargo, el mayor grado de contaminación de esta localidad ocurrió durante el período previo al alargue de la chimenea de la Fundición (se comenta más adelante). El alargue de la chimenea debió causar que los contaminantes se depositaran en forma más dispersa.

Los modelos de dispersión atmosférica que se han desarrollado para la fundición Ventanas, incluyen datos tanto meteorológicos, como topográficos, así como características de la emisión de los contaminantes. Estos modelos incluyen los datos meteorológicos de las 5 estaciones pertenecientes a la Fundición. El principal efecto sobre la dispersión de los contaminantes lo tiene el viento que impacta directamente al penacho de la chimenea, es decir, los vientos medidos en la estación meteorológica Central. En concordancia con los datos, los modelos indican que actualmente la zona más afectada por la deposición de material particulado (MP) proveniente de la fundición es la localidad de Los Maitenes, es decir, al este de la Fundición (Jorquera et al., 2007).



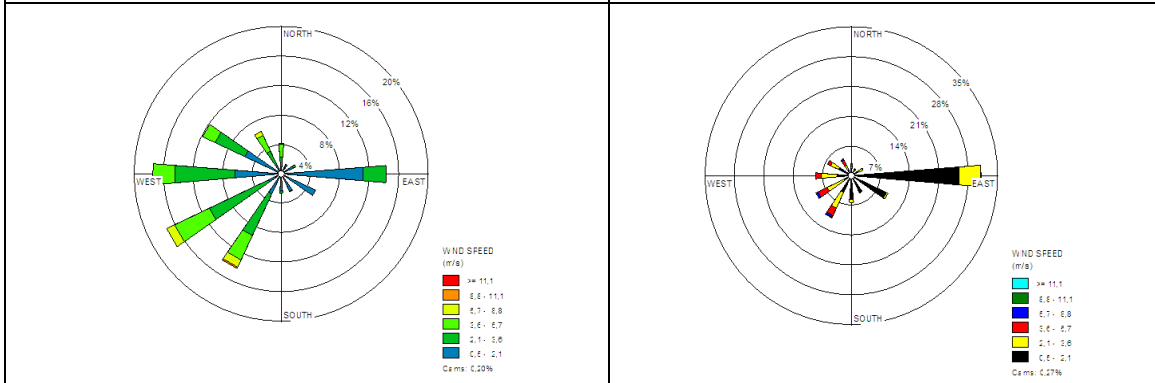
a) Rosa de los vientos para los meses de verano, en horario diurno. La dirección predominante es oeste (25%), con velocidades entre 3,6 a 5,7 m/s

b) Rosa de los vientos para los meses de verano, en horario nocturno. La dirección predominante es este (20,5%), con velocidades entre 0,5 a 2,1 m/s



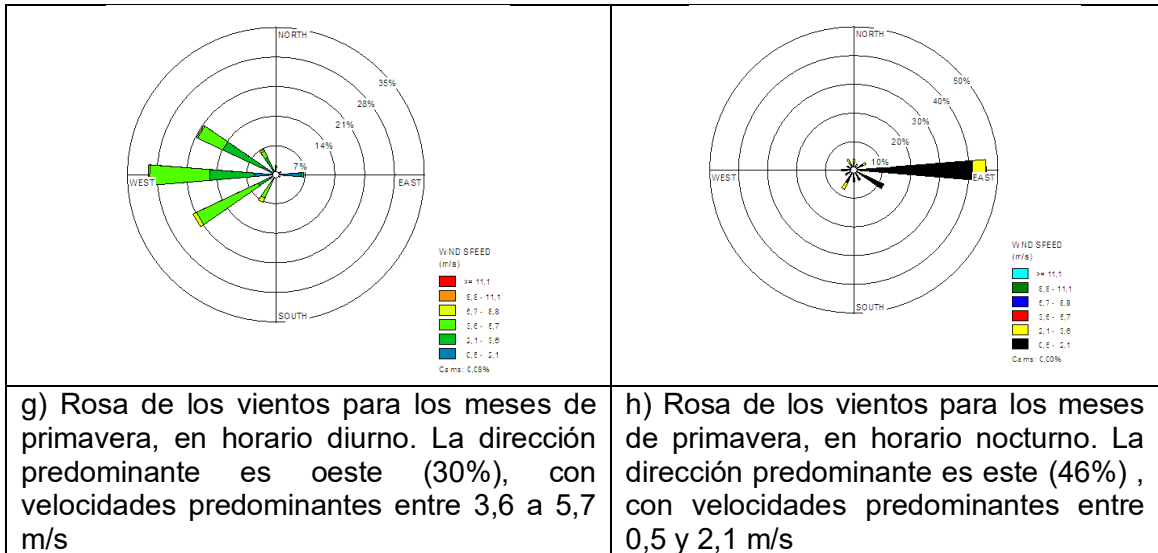
c) Rosa de los vientos para los meses de otoño, en horario diurno. La dirección predominante es este (27%), con velocidades entre 0,5 a 2,1 m/s

d) Rosa de los vientos para los meses de otoño, en horario nocturno. La dirección predominante es este (31%), con velocidades entre 0,5 a 2,1 m/s



e) Rosa de los vientos para los meses de invierno, en horario diurno. La dirección predominante es oeste (17,4%) y al oeste-suroeste (17,2%), ambos con velocidades predominantes entre 2,1 y 3,6 m/s

f) Rosa de los vientos para los meses de invierno, en horario nocturno. La dirección predominante es este (31%) , con velocidades predominantes entre 0,5 y 2,1 m/s

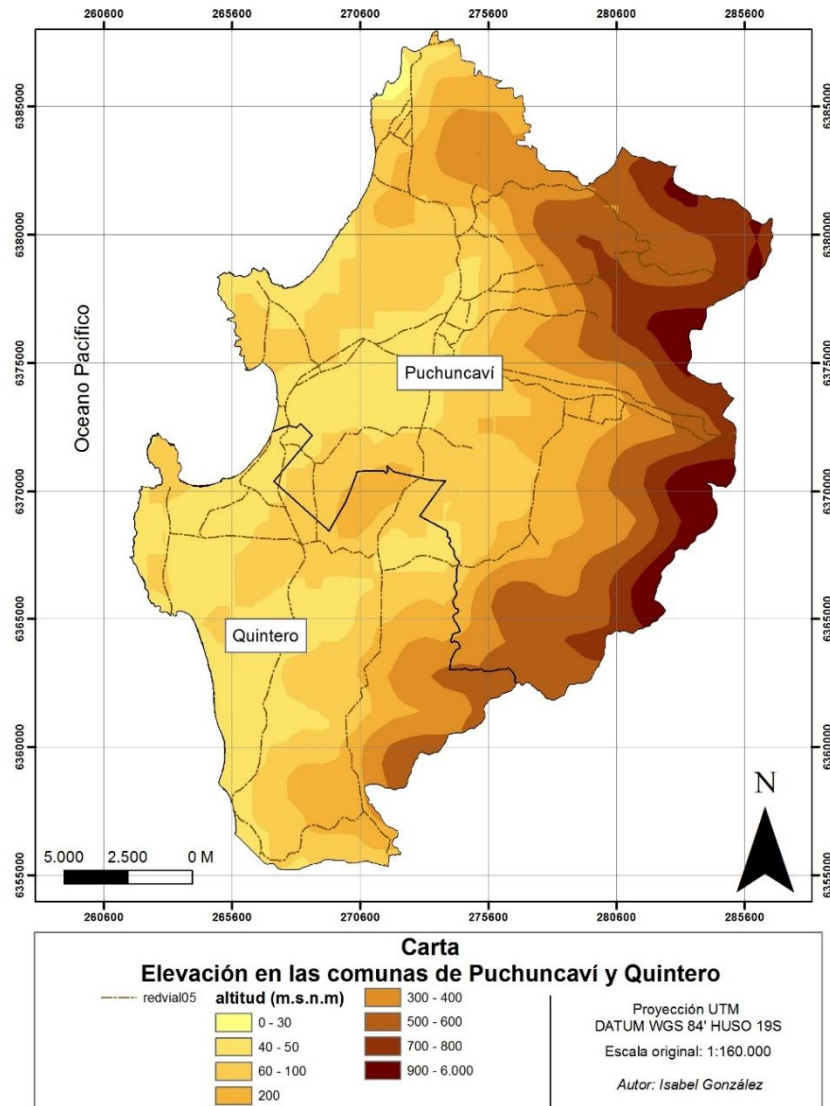


**Figura 33. Rosa de los vientos del área de estudio.**

Fuente: Elaboración propia en base a datos de la estación meteorológica Central de CODELCO Ventanas período 2003-2009

### 3.1.4. Geomorfología

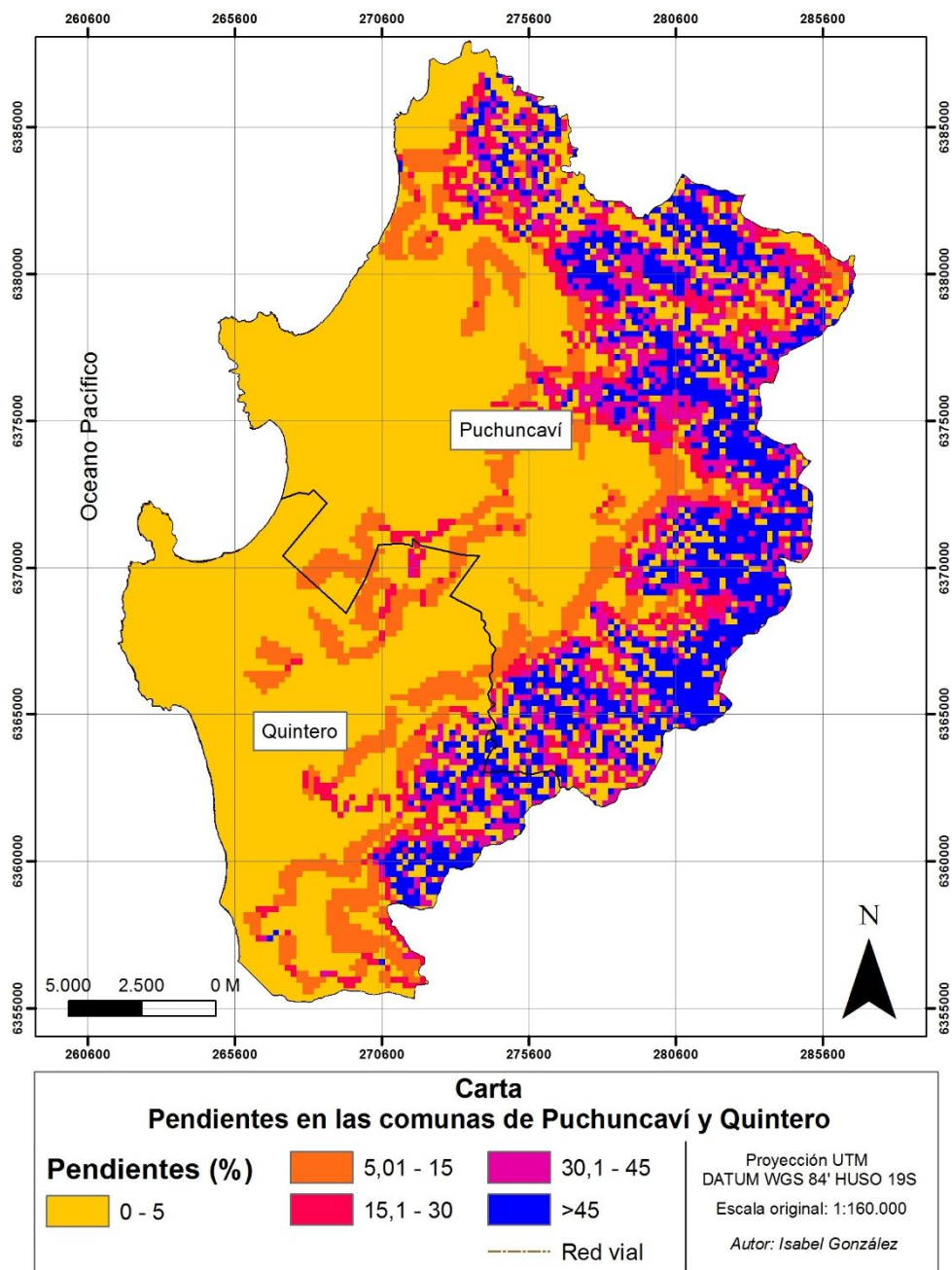
El área de estudio se encuentra inserta en una zona costera de amplias planicies litorales, dunas, estuarios y acantilados. Al este se encuentra la Cordillera de la costa, alcanzando hasta 900 m en localidades como La Canela (Figura 34).



**Figura 34. Elevación y curvas de nivel en las comunas de Puchuncaví y Quintero.**

Fuente: elaboración propia en base a curvas de nivel del Instituto Geográfico Militar (IGM)

Las pendientes predominantes en el área circundante a la fundición están entre un 0 y 5% (pendiente suave, 30% del área). El resto del territorio presenta pendientes de moderadas a escarpadas. Las pendientes de más del 20% suman en total un 11% (Centro de Información de Recursos Naturales, 1997, Figura 35).



**Figura 35. Pendientes en el área aledaña a la Fundación CODELCO Ventanas, comunas de Puchuncaví y Quintero.**

Fuente: elaboración propia en base a curvas de nivel del Instituto Geográfico Militar (IGM)

### 3.1.5. Instrumentos de Planificación Territorial: uso del suelo actual y futuro

Según una clasificación macro de uso de suelos, el borde costero Puchuncaví-Quintero puede dividirse en 5 grandes subsistemas: urbano, industrial-portuario, urbano-turístico, turístico y agro-residencial (Figura 36) (Secretaría Ministerial de Vivienda y Urbanismo de la región de Valparaíso, 2004). Lo urbano corresponde a las ciudades de Ventanas, Quintero y Loncura. Lo industrial corresponde al Clúster Industrial formado por Gener, Gasmar, Oxiquim, Copec y CODELCO Ventanas ubicado en el borde costero, en el límite de ambas comunas. Lo urbano turístico se concentra al sur de Ritoque, donde la gran cantidad de

parcelaciones genera una urbanización muy desagregada de viviendas de vacaciones (segundas viviendas) y residencias turísticas (resorts, cabañas, etc.). Lo netamente turístico corresponde principalmente a las playas de Horcón, Maitencillo y Laguna de Zapallar, donde la actividad se concentra en verano (Figura 36). Al contrario, hacia el interior de ambas comunas, en la amplia planicie litoral que se forma en toda la región, predominan las zonas agro-residenciales, donde domina la vegetación silvestre intercalada con pequeños poblados rurales que subsisten de la agricultura, en especial de la explotación de praderas naturales anuales (23,8% de la superficie de ambas comunas). Más hacia el este, la predominancia de la vegetación silvestre se hace más marcada, desapareciendo las localidades pobladas, debido a la aparición de la Cordillera de la Costa, que genera pendientes abruptas. En suma, la vegetación silvestre abarca en total un 39% de la superficie de ambas comunas, siendo la cobertura de suelo más abundante, la que incluye sectores de matorral, matorral arborescente y sectores de matorral-suculentas.

El Plan Regulador Intercomunal<sup>18</sup> vigente hasta el 2014 (aprobado en 1965 y con 4 modificaciones a la fecha), establecía los límites y restricciones de uso de suelo a futuro (Figura 37). Según esta planificación de usos de suelo, el área industrial, donde se incluye CODELCO Ventanas, se clasifica como Zona Productiva Peligrosa (ZPP)<sup>19</sup>. Esta área ZPP se expande hasta 2 km al este de la fundición (área más impactada por la misma fundición, como se verá más adelante). De esta forma, el Plan Regulador previene que el área sea utilizada para usos que involucren mayores riesgos a la población y, a la vez, delimita un área para el crecimiento industrial. Este crecimiento del área industrial ya se está dando a través del nuevo emplazamiento de una planta de gas licuado (GNL Quintero S.A) en el área inmediatamente aledaña a Gasmar.

En una proyección en el tiempo se puede observar claramente cómo ha ido creciendo el área industrial, mediante las modificaciones que se han hecho al Plan Regulador Intercomunal (1984, 1987, 1998, 2002), aumentando progresivamente el paño para industria peligrosa y molesta, sin establecer zonas buffer entre éstas y las zonas rurales habitadas (Figura 38).

Actualmente, las áreas al sur de Quintero y norte de Ventanas, menos impactadas por el Clúster Industrial, corresponden a áreas de Expansión Urbana (ZEU), donde se proyecta la construcción de viviendas en densidad, así como emplazamientos turísticos. El sector del valle central, en ambas comunas, es mayormente considerado rural, el cual incluye las Zonas de protección Agrícola (ZPA, definidas por su aptitud agrícola) o las Zonas Forestales (ZF, definidas por sus altas pendientes, que requieren cobertura arbórea). En estas zonas no es posible instalar actividades productivas a menos que sean agrícolas/forestales. El sector del extremo este de las comunas está clasificado como Zona de Riesgo Natural, por sus altas pendientes, quedando por tanto fuera del radio de expansión urbana, debiéndose realizar estudios previos detallados del terreno si se desea construir en el sector (Secretaría Ministerial de Vivienda y Urbanismo de la región de Valparaíso, 2004).

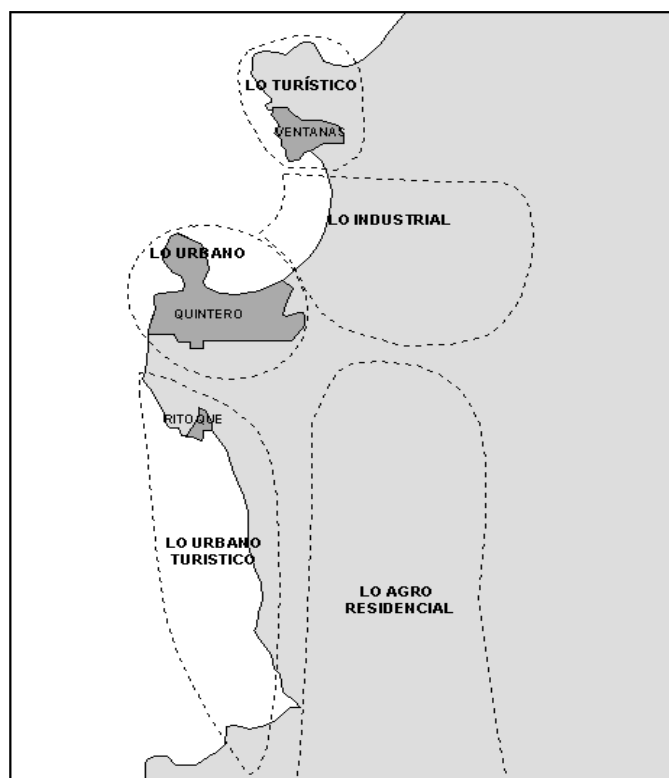
---

<sup>18</sup> Se entiende por Planificación Intercomunal aquella que regula el desarrollo físico de las áreas urbanas y rurales de diversas comunas que, por sus relaciones, se integran en una unidad urbana. El Plan del año 65 incluía las comunas de Valparaíso, Viña del Mar, Concón, Quilpué, Villa Alemana, Casablanca, Quintero, Puchuncaví

<sup>19</sup> Industria peligrosa o contaminante: aquellas que por la índole eminentemente peligrosa de sus instalaciones, materias primas que en ella se emplean, productos intermedios o productos finales, pueden causar daños a las propiedades o salud pública, en un área que excede considerablemente los límites de su propio predio

Industria molesta: Aquellas que pueden causar molestias a los residentes de las propiedades colindantes, producir excesivos ruidos o vibraciones, desprender humos o polvo, provocar excesivas concentraciones de tránsito o estacionamiento en las vías de uso público, causando con ello molestias que se prolonguen a cualquier período del día o de la noche.





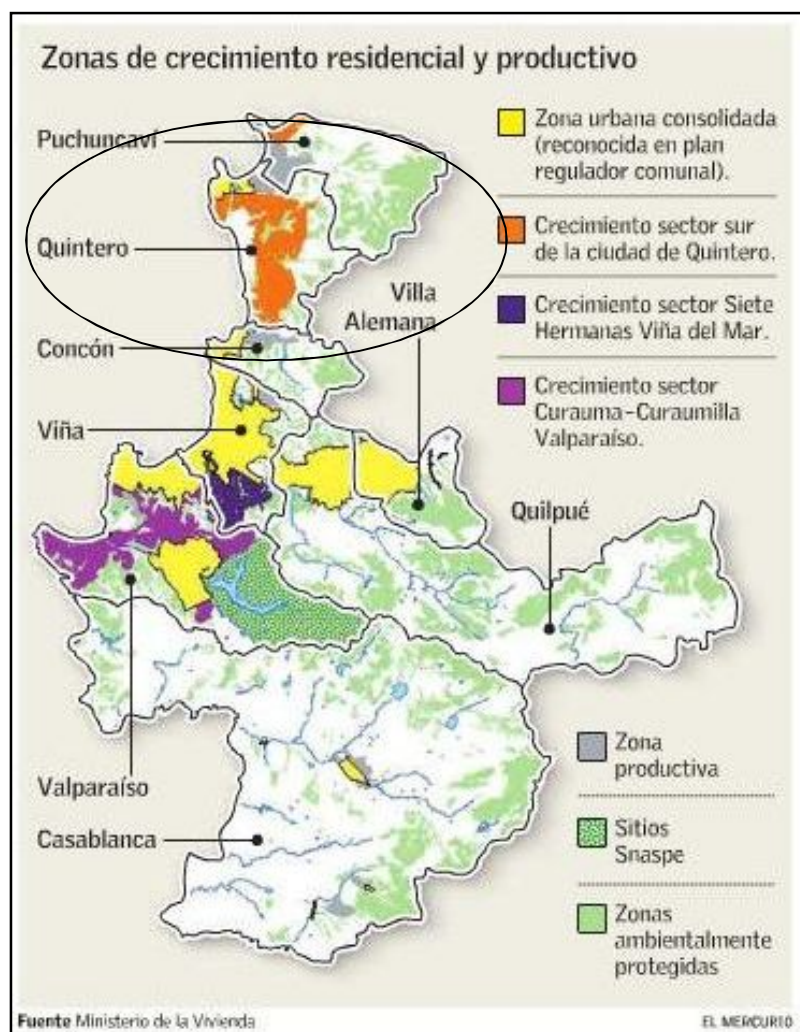
**Figura 36.- Esquema de subsistemas de uso de suelo en el borde costero Puchuncaví-Quintero.**

Fuente: Secretaría Ministerial de Vivienda y Urbanismo de la región de Valparaíso, 2004

En Diciembre del 2011, la Secretaría Regional Ministerial de Vivienda y Urbanismo ingresó un nuevo Plan Regulador Intercomunal a la Comisión de Ordenamiento Territorial del Consejo Regional. Desde 1992 estaba intentándose desarrollar una nueva propuesta pero no se había logrado. Los hechos noticiosos ocurridos durante el 2011, dieron pie al aceleramiento de este proceso. Este Plan disminuye en 500 Ha la superficie destinada a industrias molestas en Puchuncaví y establecer una zona “Buffer” en torno a la actual zona industrial.

Luego de diversas revisiones y rechazos, el nuevo plan fue aprobado por el Consejo Regional y la Contraloría Regional, luego de largas deliberaciones, en el año 2013, y promulgado el 2014, denominándose Plan Regulador Metropolitano<sup>20</sup> de Valparaíso “PREMVAL” (Ministerio de Obras Públicas & Secretaría de Obras Públicas, 2014).

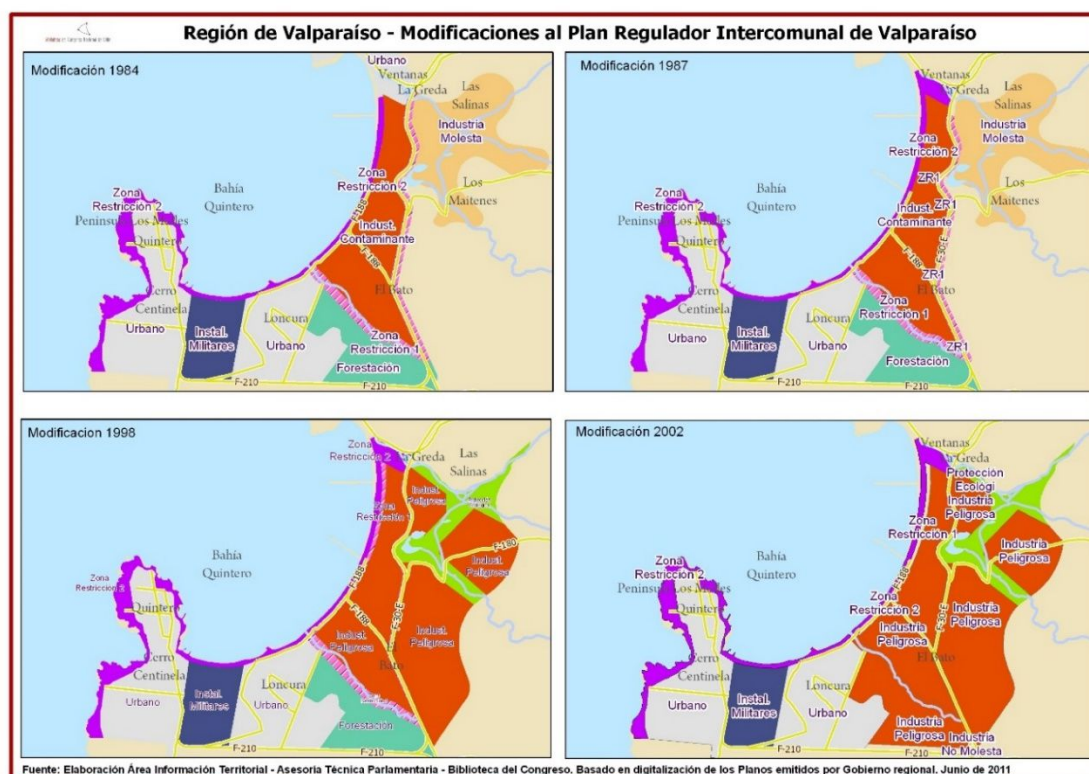
<sup>20</sup> Se denomina así cuando el área regulada sobrepasa los 500.000 habitantes



**Figura 37. Plan regulador Intercomunal del sector costero de la región de Valparaíso.**

En color naranja las áreas de expansión urbana (ZEU), en gris las áreas industriales peligrosas (ZPP), en verde las áreas de protección ambiental (zonas de riesgos naturales, ZRN), en blanco las áreas rurales, que se excluyen del Plan Regulador y donde se concentra la actividad agrícola de ambas comunas (ZPA o ZF).

Fuente: Secretaría Ministerial de Vivienda y Urbanismo de la región de Valparaíso, 2004



**Figura 38. Modificaciones al Plan Regulador Intercomunal reflejando el crecimiento del área industrial en el límite de las comunas de Puchuncaví y Quintero.**

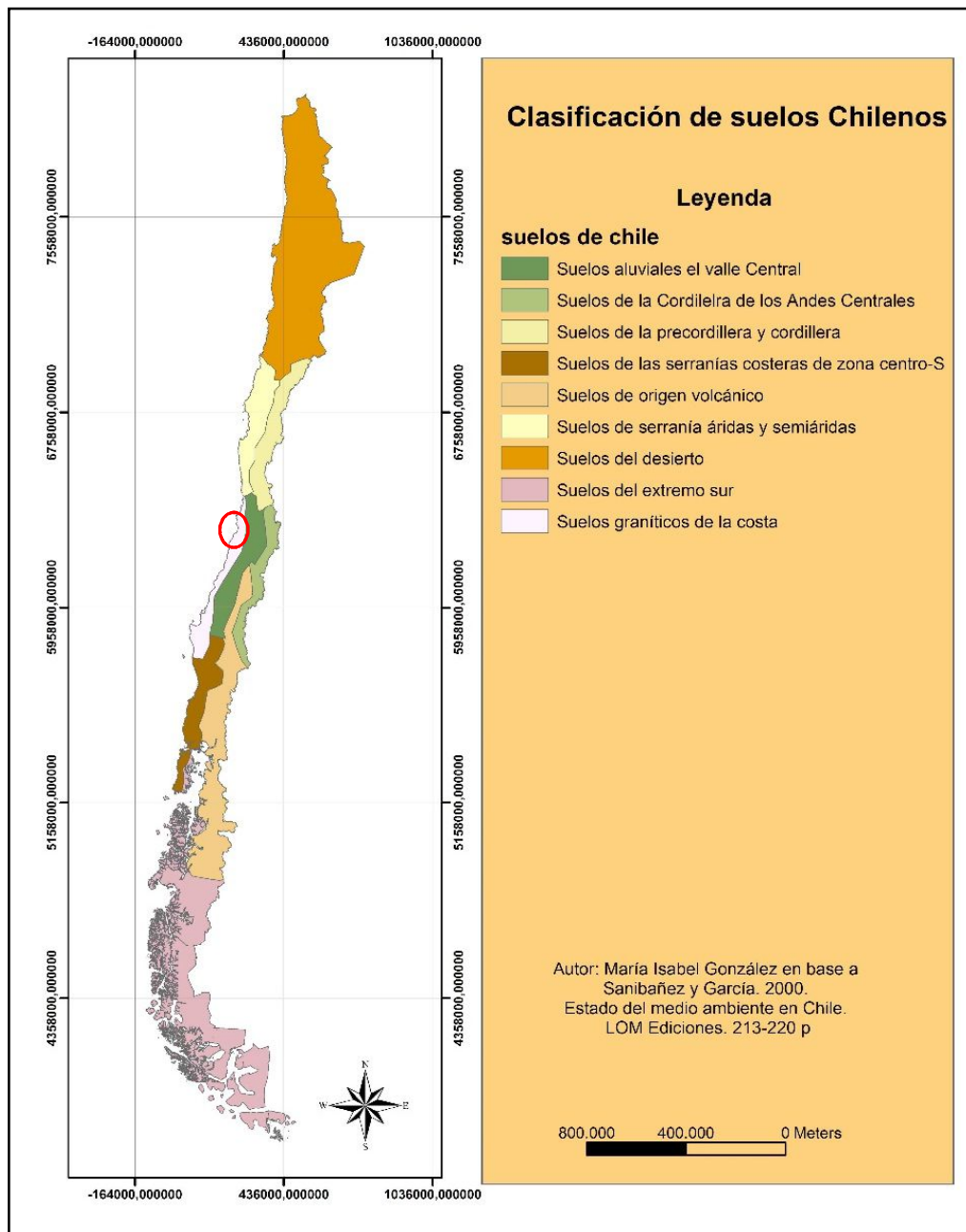
Desde 1984 a 1998 se observa la ampliación del área industrial destinada a la Industria Peligrosa (donde antes correspondía a industria molesta y un paño al sur que antes era rural). Posteriormente en el 2002 se agregó un nuevo paño, al sur, para la instalación de industria peligrosa, contaminante o insalubre.

Fuente: Biblioteca del Congreso Nacional, 2011

### 3.1.6. Caracterización de los suelos de la zona

#### 3.1.6.1. Clasificación taxonómica

El área de estudio se ubica en la zona de Suelos Graníticos de la Costa, en la que predominan Inceptisoles, suelos poco evolucionados, con poca distinción de horizontes, derivados de directamente de roca granítica (lado oeste de la cordillera de la Costa) (Santibañez & García, 2000). Estos suelos se ubican en una zona clasificada nacionalmente como de alta erosión (34-57% de la superficie erosionada), donde también existe un continuo avance de las dunas (Figura 39).



**Figura 39. Grandes grupos de suelos en Chile.**

El círculo rojo indica la ubicación de las comunas de Puchuncaví y Quintero  
Fuente: elaboración propia en base a Santibañez y García, 2000

### 3.1.6.2. Series de suelo

Cada serie de suelo describe un intervalo de propiedades de suelos, por lo tanto cada serie es una unidad homogénea. Los suelos de una misma serie tienen un mismo origen, una misma secuencia de horizontes o estratas, un mismo rango de propiedades del suelo (pendiente, profundidad, textura, erosión, variables químicas) y deben comportarse de manera similar.

En el área de estudio existen 11 series de suelos, más una categoría de "otros", que corresponden a zona de "no suelo" (en este caso, dunas o vegas). Las series presentes son: *Chililauquén*, *Loncura*, *Lo Vásquez*, *Tabolango*, *Campiche*, *Valle Alegre*, *Catemu*, *Catapilco*, *Mantagua*, *Santa Amalia de Casablanca* y *Ocoa*

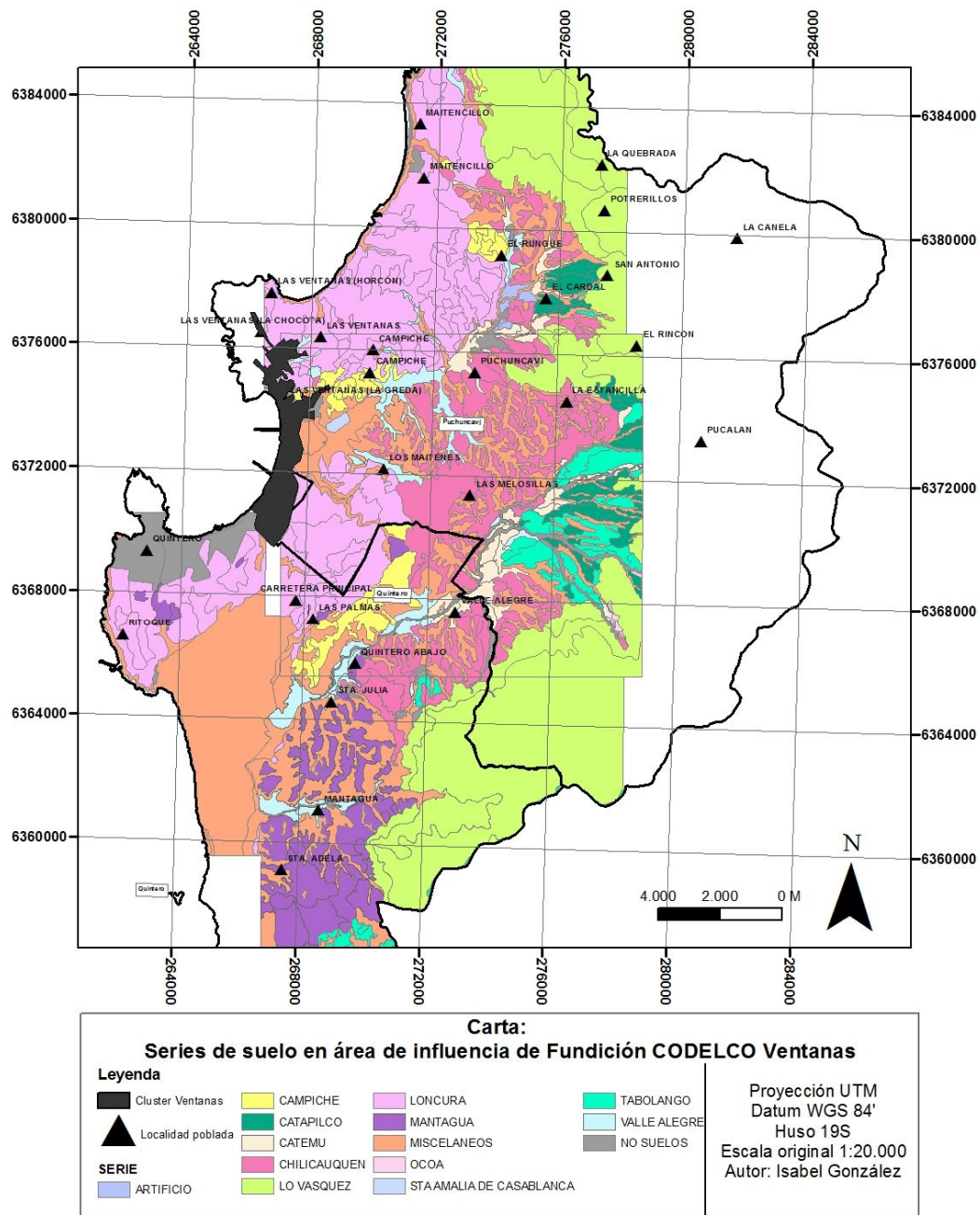
(Figura 40). La caracterización de las series se entrega en la Tabla 5. La serie predominante en el sector es *Lo Vásquez* (25%), que ocupa el sector este de las comunas. Esta serie se caracteriza por terrenos ondulados a montanos y variaciones en la erosión. También es importante la serie *Loncura* (18% de la superficie), aunque esta serie está presente en sectores donde no hay asentamientos humanos, sino que son sectores de caminos interiores hacia las localidades del sector (Centro de Información de Recursos Naturales, 1997).

**Tabla 5. Caracterización de las series de suelo presentes en el área de estudio.**

Serie	% de la superficie	Profundidad	Pendiente	Textura	Erosión
Chililauquén (CCQ)	12,1	Ligeramente profundo (50-75 cm)	Suavemente ondulada a fuertemente ondulada (5-20%)	Franco arenosa	Sin erosión a erosión severa
Loncura (LNR)	17,6	Ligeramente profundo (50-75 cm)	Suavemente ondulada a fuertemente ondulada (5-20%)	Arenoso franco	Sin erosión a erosión ligera
Lo Vásquez (LVZ)	24,6	Ligeramente profundo (50-75 cm)	Moderadamente ondulada a montana (8 a más de >50%)	Franco arenoso	Sin erosión a erosión ligera
Tabolango (TBL)	5,7	Ligeramente profundo (50-75 cm)	Plano a suavemente ondulado (0-8%)	Franco arenoso	Sin erosión
Campiche (CMP)	3,2	Profundo (más de 100 cm)	Moderadamente ondulada (8-15%)		Sin erosión
Valle Alegre (VLG)	3,0	Ligeramente profundos a profundos (50 a más de 100 cm)	Plano (0-1%)		Sin erosión
Catemu (CTM)	2,0	Ligeramente profundos a profundos (50 a más de 100 cm)	Plano (0-1%)		Sin erosión
Catopilco (CPC)	1,9	Ligeramente profundo (50-75 cm)	Plano (0-1%)		Sin erosión
Mantagua (MNG)	4,8	Ligeramente profundo (50-75 cm)	Ligeramente ondulada (2-5%)		Erosión ligera
Sta. Amalia de Casablanca (SAC)	0,1	Moderadamente profundo (75-100 cm)	Plano (0-1%)		Sin erosión

Ocoa (OCA)	0,1	Ligeramente a moderadamente profundo (50-100 cm)	Plano a suavemente ondulado (0-8%)		Sin erosión
MISCELANEOS	20,6				

Fuente: Centro de Información de Recursos Naturales, 1997



**Figura 40. Series de suelo en el área de influencia de la Fundación CODELCO Ventanas. Comunas de Puchuncaví y Quintero, región de Valparaíso (no se tiene información de la totalidad de la superficie de ambas comunas)**

Fuente: Centro de Información de Recursos Naturales, 2003

### 3.1.6.3. Capacidad de uso agrícola de suelo

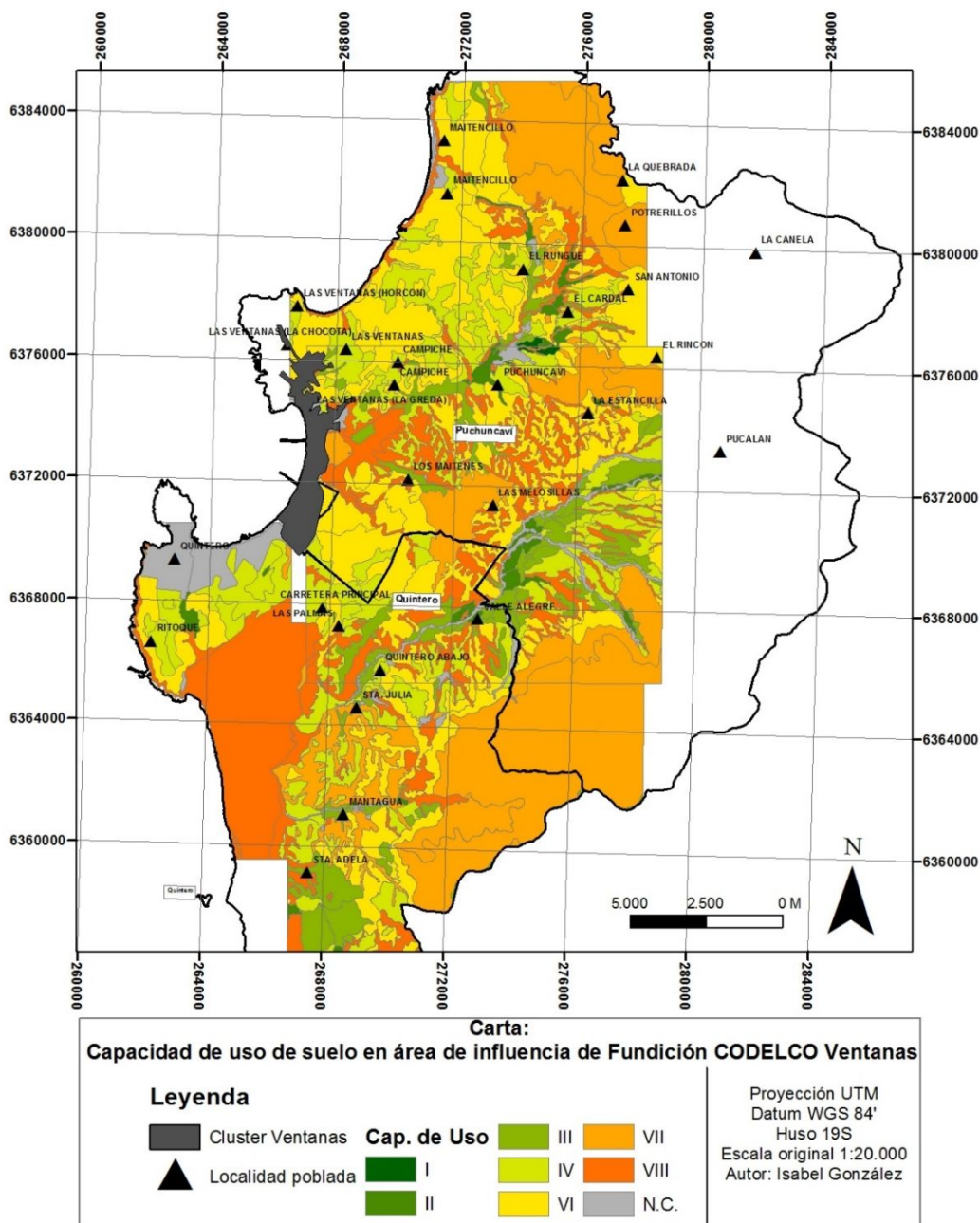
El Sistema de Capacidad de Uso de suelos, creado por el USDA (Klingebiel & Montgomery, 1961) fue adoptado posteriormente en Chile. Consiste en una herramienta analítica que ayuda a comparar sitios basándose en su capacidad de utilización agrícola, considerando dificultades y riesgos que afectan su uso. El sistema considera ocho categorías convencionales (I-VIII) organizadas en tres grupos. El grupo A contiene tierras cultivables con cultivos anuales, perennes, pasturas y/o reforestación y/o vida silvestre, comprendiendo las clases I, II, III y IV. El grupo B comprende tierras adaptadas a las pasturas y/o reforestación y/o vida silvestre, incluyendo las clases V, VI y VII. El grupo C son tierras no cultivables, pero apropiadas para protección de la flora y de la fauna silvestre, recreación y almacenamiento de agua, abarcando la clase VIII. En cada grupo, las limitaciones van aumentando con el número. En consecuencia los suelos clase I son los más adecuados para la agricultura, sin presentar prácticamente limitaciones. En oposición, los suelos clase VIII son suelos sin valor agrícola cuyo uso está solamente limitado a vida silvestre, recreación o protección de hoyas hidrográficas. El sistema también considera subcategorías, que especifican el tipo de limitación de cada clase con subíndices s (limitaciones de suelo), e (erosión), w (drenaje) y cl (clima) (Honorato, 1993).

En el área de influencia de la Fundición CODELCO Ventanas<sup>21</sup> se presentan Capacidades de Uso entre I y VIII (Figura 41).

- La *clase* que predomina es la *VI*, abarcando un 29% de la superficie total que contiene información. Estos suelos son inadecuados para cultivos, limitados para pastos y uso forestal. Específicamente, presentan dos limitantes: un 17% presenta limitantes físico-químicas. Estos suelos son aquellos más cercanos a la Fundición (en un radio de 1 a 5 km), donde se infiere que las limitantes son derivadas de la contaminación antrópica. El 12% restante presenta como limitante la erosión, presentándose en zonas donde las pendientes son superiores al 15%.
- La *clase VIII* también presente en los alrededores de la fundición, abarcando un 20% de la superficie con información; está también presente en sectores donde no hay suelo propiamente, sectores de dunas y pantanos, muy cerca del borde costero, y en sectores correspondientes a quebradas, más al interior del territorio.
- Los suelos *clase IV* abarcan un 18% de la superficie, correspondiendo a suelos con severas limitaciones para el uso agrícola, pero donde aún pueden existir actividad agrícola, tomando las medidas necesarias de manejo. Estos suelos presentan limitaciones de suelo en las zonas más cercanas a la Fundición (14,5%). El 3,5% restante son suelos al interior, con problemas de drenaje, probablemente por su cercanía a cursos de agua.
- Los suelos más aptos para la agricultura, *clases I y II* solo ocupan sólo un 2,3% de la superficie, correspondiendo a sectores de terrazas recientes. Los suelos *clase III*, con algunas limitaciones, abarcan un 10% del territorio.

---

<sup>21</sup> No se cuenta con información para toda la superficie de las dos comunas, sino solamente el área costera



**Figura 41.- Capacidad de uso de suelo en el área aledaña a la Fundación CODELCO Ventanas, comunas de Puchuncaví y Quintero.**

Fuente: Centro de Información de Recursos Naturales, 2003

#### 3.1.6.4. Valores background de metales en el suelo

Para definir los valores background de metales en el suelo, el Ministerio de Medio Ambiente Chileno, encargó un estudio del estado de contaminación metálica de suelos en Puchuncaví y Quintero, el cual incluía la determinación de los valores de fondo de concentraciones totales para metales traza. Esto último se hizo tomando, en el caso de Cu, 40 puntos de muestreo en sectores alejados de la contaminación (en zonas tras cordones montañosos y no en la dirección de los vientos predominante) y con similares características físicas, químicas, geológicas y biológicas de la zona de estudio, tal como lo indica la USEPA (PGS Chile, 2015). Se



muestrearon suelos en las comunas de Nogales, Zapallar y Concón (al norte y sur de las comunas en estudio) y específicamente en las series de suelo Catapilco, Loncura y Lo Vásquez, presentes dentro del área de estudio (PGS Chile, 2015).

Según métodos establecidos por el ministerio, el valor background se calcula sobre la variabilidad propia de los datos obtenidos para cada elemento. Este se estima como si fuera el límite superior del intervalo de confianza del 95%, de la concentración media del elemento de los sitios no contaminados (PGS Chile, 2015).

Los resultados obtenidos (Tabla 6) indican un valor de 68 mg/kg de Cu como background de Cu total para Cu.

**Tabla 6. Tabla de valores background de metales, para las comunas de Puchuncaví y Quintero**

Elemento	Background suelo (ppm)
V	90,9
Mn	917
Ni	18,4
Cu	68
Zn	136
As	12,8
Se	0,38
Cd	0,14
Pb	18,9

Fuente: PGS Chile, 2015

En este estudio solo se estudiaron las concentraciones totales, no las concentraciones biodisponibles

### 3.1.7. Vegetación

En el área de estudio, la mayor proporción de la superficie ocupada por vegetación, está ocupada por matorrales y matorrales arborescentes de diferentes densidades, predominando el matorral semidenso (16,9% de la superficie), según la clasificación de Ettiene y Prado (1982, Tabla 7). También son muy abundantes las praderas anuales (23,8% de la superficie), principalmente en el sector de las planicies litorales, donde el terreno es plano y la neblina costera favorece el desarrollo de las praderas. Las plantaciones forestales también ocupan una importante superficie (16,84%), predominando las plantaciones de eucaliptos en el borde costero, como estrategia para prevenir el avance de las dunas, mientras en el límite este de las comunas predominan los renovales. Por otro lado, los bosques naturales son prácticamente inexistentes, solo existe un pequeño parche de bosque achaparrado en Quintero.

**Tabla 7. Formaciones vegetales en el área de estudio según clasificación de Ettiene & Prado (1982).**

Formación vegetal	ha	% del área de estudio
Praderas anuales	11.156	23,8
Matorral semidenso (50-75% de cobertura)	7.906	16,9
Matorral muy abierto (10-25% de cobertura)	4.866	10,4
Plantación forestales	3.948	8,45
Matorral abierto (10-25% de cobertura)	3.795	8,12
Renoval abierto (10-25% de cobertura)	2.276	4,87
Matorral denso (75-100% de cobertura)	1.401	3,00
Matorral arborescente semidenso (50-75% de cobertura de matorral >2m)	1.243	2,6
Renoval semidenso	1.106	2,37
Matorral arborescente denso (75-100% de cobertura matorral >2 m)	1.042	2,22
Renoval denso (75-100 de cobertura)	536,8	1,15
Matorral arborescente abierto (10-25% cobertura matorral >2 m)	297,4	0,63
Matorral-suculentas-abierto (10-25% matorral, estrato bajo de suculentas)	198,3	0,42
Matorral-suculentas semidenso (50-75% cobertura matorral, estrato bajo de suculentas)	166,3	0,35
Plantación joven o recién cosechada	159,7	0,34
Bosque exótico asilvestrado	54,5	0,12
Bosque nativo achaparrado denso (75-100% cobertura árboles nativos bajos)	40,2	0,08
Zonas de no-suelo (dunas, playa, zonas industriales, ciudades y vegas)	6.620	14,18

Fuente: elaboración propia en base a SINIA, 2002

La vegetación dentro de la comuna es de dos tipos: aquella que ha sido afectada por la contaminación proveniente del Clúster Industrial Ventanas y aquella que aún permanece similar a su estado original, por encontrarse lejos del alcance de la contaminación; sin embargo, las grandes formaciones vegetales se mantienen, variando fundamentalmente su composición y cobertura.

#### 1.8. Niveles normales de Cu en los suelos de la región de Valparaíso

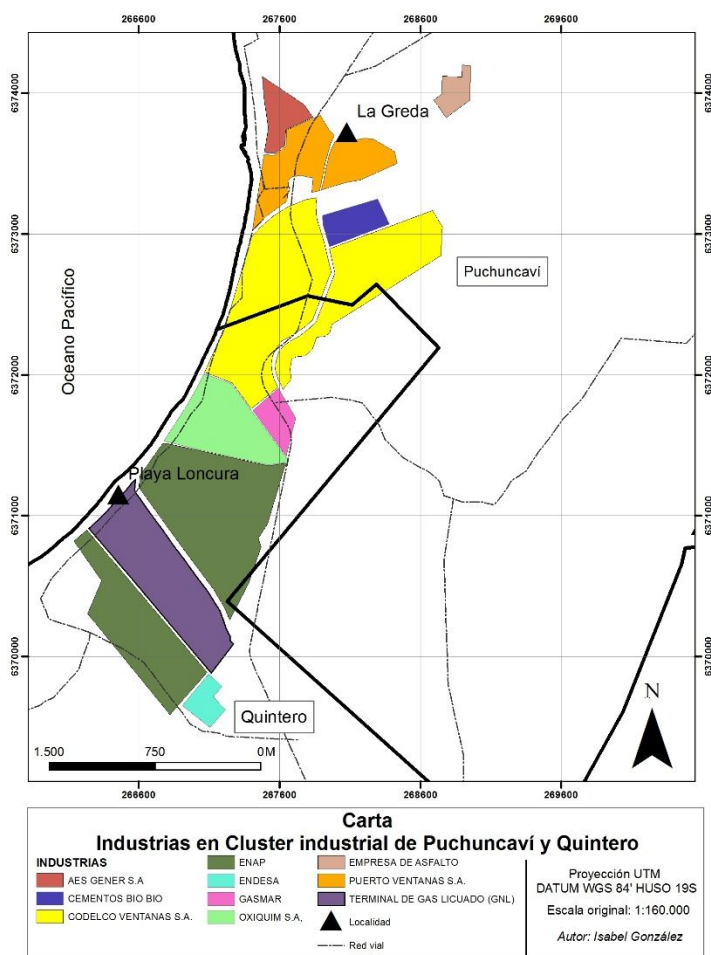
Una prospección realizada en comunas aledañas a Quintero y Puchuncaví, alejadas del clúster industrial (más de 24 km alejado) arrojó que la concentración total de Cu en los suelos era en promedio de  $58 \pm 26 \text{ mg kg}^{-1}$ , con un percentil 90 de  $92,8 \text{ mg kg}^{-1}$  (rango  $16-115 \text{ mg kg}^{-1}$ ) con un pH de  $7.1 \pm 0.6$ .

### 3.2. Contaminación por cobre en las comunas de Puchuncaví y Quintero

#### 3.2.1. Origen y evolución de la contaminación

##### 3.2.1.1. Área industrial de la bahía Quintero

En el límite entre las comunas de Puchuncaví y Quintero, en el borde costero, se ubica una gran franja de territorio destinada a usos Industriales (Figura 42), donde se emplazan actualmente CODELCO Ventanas, AES Gener (termoeléctrica), Gasmar (importador de gas licuado), Oxiquim (distribución de productos químicos líquidos), COPEC (terminal y almacenamiento de combustible) y donde se emplazará ENAP-GNL Quintero (recepción, almacenamiento y regasificación de Gas Natural Licuado) y la termoeléctrica Nueva Ventanas de GENER. Actualmente esta franja se denomina Clúster Industrial Ventanas (antes Complejo Industrial Ventanas).



**Figura 42. Ubicación de las industrias en el borde costero Puchuncaví-Quintero actualizado.**

Fuente: Ministerio de Medio Ambiente, 2013

CODELCO Ventanas: Fundición y refinería de cobre, pertenece a CODELCO (Corporación Nacional del Cobre, la empresa minera estatal de Chile) desde el 2005. En este plantel se producen refinados de cobre como cátodos de cobre, destinados

principalmente a exportación, lingotes RAF, blíster, lingotes de oro, granallas de plata, molibdeno y ácido sulfúrico. El proceso de refinación implica la flotación fundición y finalmente electrorrefinación del mineral. Posteriormente, los gases con contenido de azufre que emanan de los hornos de fusión de concentrados de cobre son captados para la producción de ácido sulfúrico (CODELCO, 2015a, 2015b). La Fundición es responsable de la emisión de material particulado rico en metales, principalmente cobre, así como de anhídrido sulfuroso (CODELCO, 2010; Ibáñez, 2003).

La empresa tiene además una termoeléctrica que surte a 4 de las 5 fundiciones de cobre del país: AES GENER: La empresa AES Gener, de propiedad desde el 2000 de la empresa "The AES Corporation" (antes CHILECTRA), es una empresa dedicada a la producción de electricidad en Chile (Gener S.A, 2008). La planta Ventana está en funcionamiento desde 1964, conectada al Sistema Interconectado Central, con 270 MW de potencia. La producción eléctrica se basa en la combustión de carbón para producir calor y vapor de agua en la caldera. El vapor es llevado a una turbina que al girar produce electricidad. La empresa tiene dos nuevas Termoeléctricas: La planta Campiche (aprobada en mayo del 2008) y Nueva Ventanas (aprobada en noviembre del 2006, en construcción desde el 2007), ambas a carbón. En cuanto a las emisiones contaminantes, la termoeléctrica ha descargado por años sus desechos líquidos en el estero Campiche, lo que ha provocado su contaminación (no cumple con normativa de calidad para aguas destinadas a vida acuática). Por otro lado, al succionar agua de mar para el enfriamiento de calderas se causan severos daños a organismos marinos (Consejo Ecológico Comunas de Quintero y Puchuncaví, 2006). En cuanto a emisiones atmosféricas, las principales emisiones de las termoeléctricas son CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub> y material particulado. El material particulado de una termoeléctrica está constituido de cenizas volátiles, la cual contiene, además de Si un 13% de Al y un 3% de Fe. El mercurio también se encuentra presente en estas emisiones siendo importante por su alta toxicidad en sistemas acuáticos (Isolux Corsán, 2007).

De la descripción anterior se concluye, que solamente AES GENER y CODELCO emiten cantidades significativas de contaminantes a la atmósfera. Ambas plantas emiten SO<sub>2</sub> y material particulado. Sin embargo, solamente CODELCO Ventanas emite material particulado cargado en cobre y otros metales

#### 3.2.1.2. Historia de la Fundición CODELCO-Ventanas

En 1955 se creó en Chile la Empresa Nacional de Fundiciones (ENAF). Su objetivo era crear la capacidad de fusión que el país necesitaba para beneficiar los minerales de fundición, concentrados y precipitados, evitando su exportación directa. Tras finalizar los estudios técnicos y económicos el Directorio de la organización resolvió, el 31 de diciembre de 1957, levantar la Fundición y Refinería en la localidad de Las Ventanas, comuna de Puchuncaví, Región de Valparaíso. La decisión de instalar la Fundición en Puchuncaví fue tomada en base a informes técnicos que aseguraban que la dispersión de contaminantes en la bahía era mejor que en otras localizaciones evaluadas, por ejemplo, Papudo. La instalación del Complejo se vislumbraba en ese entonces como un "polo de desarrollo regional" (Millissen, 2003; Sabatini et al., 1996).

En 1960 la ENAF pasa a ser ENAMI (Empresa Nacional de minería). Luego de varios años de construcción, la nueva fundición ENAMI-Ventanas comenzó su funcionamiento en 1964. La fundición se instaló en Ventanas al mismo tiempo que la termoeléctrica GENER (antes Chilgener). Luego de la construcción de un muelle se consolidó el conjunto industrial como "Complejo Industrial Ventanas (CIV)" (ENAMI,

2016).

A pesar del entusiasmo inicial, el funcionamiento del CIV dio inicio a la emanación descontrolada de contaminantes que, en el caso de la fundición, correspondían a SO<sub>2</sub> y material particulado cargado de cobre, arsénico y otros metales. La fundición emitía en sus inicios más de 117.298 ton/año de SO<sub>2</sub> y 3.400 ton/año de material particulado. Por su lado Chilgener emitía 8.951 ton/año de SO<sub>2</sub> y 23.400 ton/año de material particulado<sup>22</sup>. Los contaminantes, dispersados con el viento afectaron un área importante en torno al Complejo Industrial, siguiendo el valle de Puchuncaví, alterando la composición química del aire y suelo y afectando en consecuencia la salud humana, ganadera y la vegetación presente en el área, tanto a los cultivos y especies silvícolas, como la vegetación nativa existente. Cabe mencionar que la dispersión del anhídrido sulfuroso SO<sub>2</sub>, por su condición física gaseosa, tiene una difusión mayor, afectando un área superior a la de influencia de los contaminantes sólidos pero con concentraciones unitarias menores (González & Berqvist, 1986; Orr & Dávila, 1992). En ese entonces, la longitud de la chimenea hacía que el principal punto de deposición de los contaminantes fuera la localidad rural de Los Maitenes. Reconociendo esto, en 1978 la Fundición extendió su chimenea hasta alcanzar los 70 m, constituyéndose en una de las más altas de Latinoamérica. Sin embargo, las emanaciones recayeron en otras localidades pobladas: Puchuncaví y Campiche (Millissen, 2003).

Durante los años siguientes continuaron las quejas privadas, protestas disimuladas, reclamos formales ante la autoridad y algunas acciones judiciales contra la empresa, que no prosperaron por falta de pruebas. Sin embargo, existen estudios que demuestran que entre 1964 y 1981 la superficie agrícola destinada a trigo disminuyó un 68% y la destinada a lentejas un 29%; también la tasa de éxodo rural aumentó considerablemente. La movilización social se hizo más decidida a partir de 1987-1988, en vísperas de la recuperación de la democracia (Folchi, 2003).

En 1990 se formó el Comité de Defensa del Medio Ambiente por sugerencia de la Junta de Adelanto, presidido por el Alcalde e integrado por representantes comunitarios, funcionarios locales de salud y educación, y representantes de las empresas contaminantes, Enami y Chilgener. Esta entidad fue la negociadora entre la empresa y la comunidad, relacionándose en general con cordialidad. También en la prensa de circulación nacional y en las principales estaciones de televisión se mostraron noticias sobre el problema de la contaminación. En este contexto, la conciencia ambiental de las empresas del CIV (ENAMI y Chilgener) comenzó a manifestarse en acciones ambientales específicas, tendentes a disminuir sus emisiones contaminantes a la atmósfera. Desde el gobierno y con el concurso de ambas empresas, se preparó un plan de acción oficial, anunciado por el Ministro de Minería el 29 de Agosto de 1990, firmándose dos días después un "Protocolo de acuerdo" entre ENAMI, Chilgener, el Ministerio de Minería y el Gobierno Regional. Este protocolo comprendía el estudio de un plan de descontaminación, el "Programa Ambiental de Ventanas" (PAV), la instalación de una red permanente de monitoreo de calidad del aire y la puesta en marcha de una planta de ácido en la fundición (Sabatini, 1996).

Paralelamente, en 1992, se publicó el DS N°185 (Ministerio de Minería, 1992), que reglamenta en Chile la calidad del aire para SO<sub>2</sub>, material particulado y arsénico, estableciéndose su mecanismo de fiscalización. Este decreto incluía norma primaria

---

<sup>22</sup> No se conocen las emisiones exactas al inicio del funcionamiento del Complejo Industrial Ventanas, solamente a partir del inicio del monitoreo de emisiones (1993)

y secundaria<sup>23</sup> (Tabla 8).

**Tabla 8. Normas de calidad primaria y secundaria de aire establecida para SO<sub>2</sub>, pasadas y vigentes.**

Norma	Valor (ug/m <sup>3</sup> ) SO <sub>2</sub>	Valor PM (ug/m <sup>3</sup> )	Período de evaluación	Decreto
Primaria	80	-	Anual	D.S. N° 185/91 (derogado)
	365	150	Diario	
	-	50	Anual	D.S. N° 59/98 (vigente)
	-	150	Diario	
	80	-	Anual	D.S. N° 113/02 (vigente)
	250		Diario	
Secundaria	80		Anual	D.S. N° 185/91 (vigente)
	360		diario	
	1000		Horario	

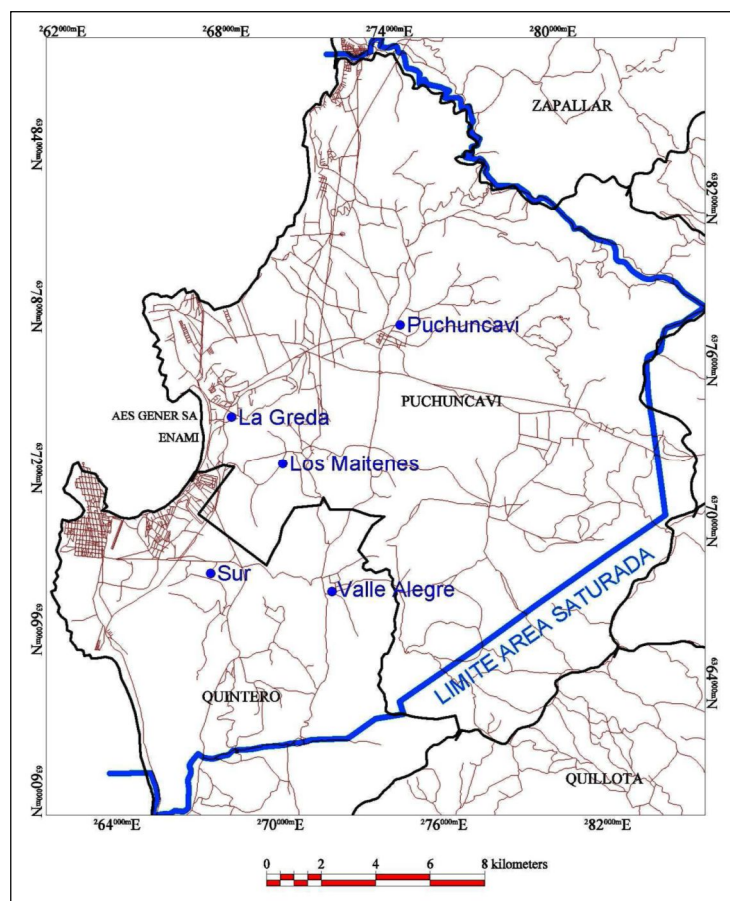
Fuente: MINSAL *et al.*, 2007

Finalmente, en diciembre de 1992, se emite el DS N° 252, que aprueba el “Plan de Descontaminación del Complejo Industrial Ventanas”. Las emisiones debían disminuir paulatinamente hasta llegar a valores de emisión que permitieran cumplir la normativa de calidad de aire existente (D.S.185). Las metas fijadas debían cumplirse a más tardar el 1° de enero de 1995 para MP<sub>10</sub> y 30 de junio de 1999 para SO<sub>2</sub>. Lo anterior obligó a las empresa a instalar monitoreo de sus emisiones, por lo que a partir de 1993 se pudieron obtener datos de las emisiones de SO<sub>2</sub> y MP del Complejo Industrial (ANEXO III, Tabla 2). Paralelamente se debía realizar un monitoreo de calidad del aire en zonas cercanas al complejo. Este monitoreo se materializó a través de 5 estaciones ubicadas en Puchuncaví, La Greda, Valle Alegre, Los Maitenes y Sur de Ventanas (Figura 27).

El plan de descontaminación de la Fundición ENAMI-Ventanas incluyó la implementación de una planta de ácido, la instalación de un horno eléctrico y el manejo de los gases de los convertidores y el horno eléctrico. La iniciativa del Plan de Descontaminación implementada en Ventanas se replicó posteriormente en las otras 4 fundiciones del país (COCHILCO, 2003).

Una vez que se contó con mediciones de la red de monitoreo, en 1993, se comprobó que las normativas de calidad estaban sobrepasadas, por lo que la zona de Puchuncaví fue declarada zona saturada de SO<sub>2</sub> y material particulado (D.S N° 346/93 del Ministerio de Agricultura, Figura 43), continuándose con el plan de descontaminación.

<sup>23</sup> Las primarias tienen como objetivo proteger la salud de la población y se aplican en todo el país por igual. Las secundarias permiten proteger recursos naturales u otros, tales como cultivos, ecosistemas, especies de flora o fauna, monumentos nacionales o sitios con valor arqueológico.



**Figura 43. Límites de la zona saturada por SO<sub>2</sub> y MP (D.S N° 346/93).**

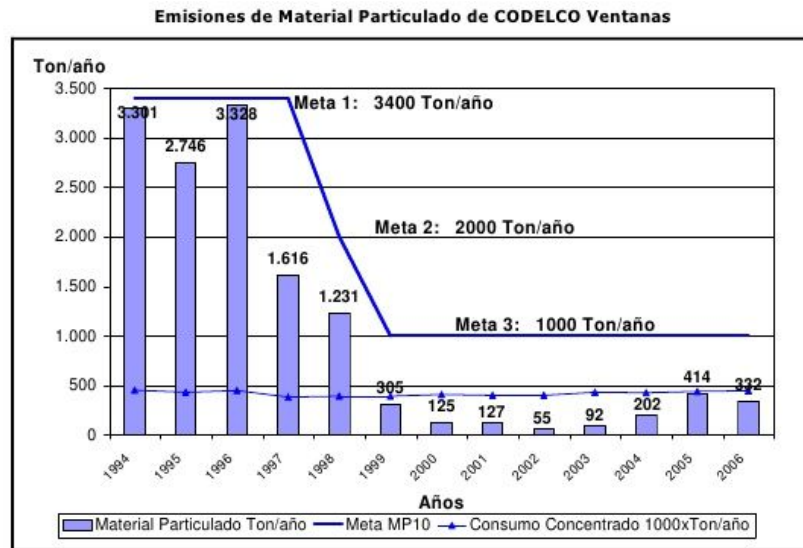
Fuente: Ministerio de Salud *et al.*, 2007

En 1995, ENAMI Ventanas con el apoyo de la agencia de cooperación británica Overseas Development Agency, se realizó una auditoría ambiental de la Fundición y Refinería Ventanas. Este hecho constituye uno de los primeros hitos de importancia del nuevo enfoque ambiental preventivo que pretendía adoptar la empresa (Maureira y Ruiz, 2012).

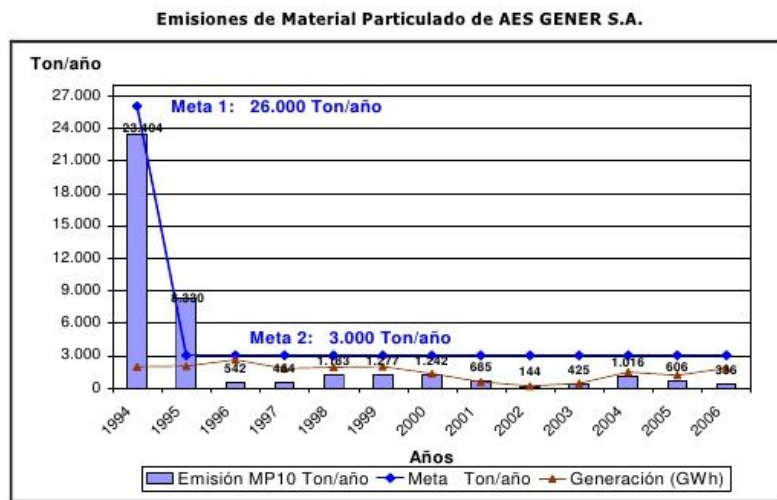
Entretanto, a nivel gubernamental, en 1998 y 2002 se emitieron nuevas normativas primarias de calidad de aire en 1998 y 2002, derogándose las anteriores (Tabla 8). Llama la atención, que el D.S N°113/2002 hizo más flexible la normativa comparado al decreto anterior, aumentando las concentraciones máximas permitidas de SO<sub>2</sub>.

Desde 1994 el proceso productivo del CIV se ajusta al plan de emisiones exigidas por el DS N°252 (Figura 44); en julio de ese mismo año se cumple con los índices de calidad de aire exigidos por la normativa. En general, las emisiones de material particulado se han reducido paulatinamente hasta un 94% del valor inicial y las de SO<sub>2</sub> un 68% (MINSAL, 2007; Millissen, 2003).

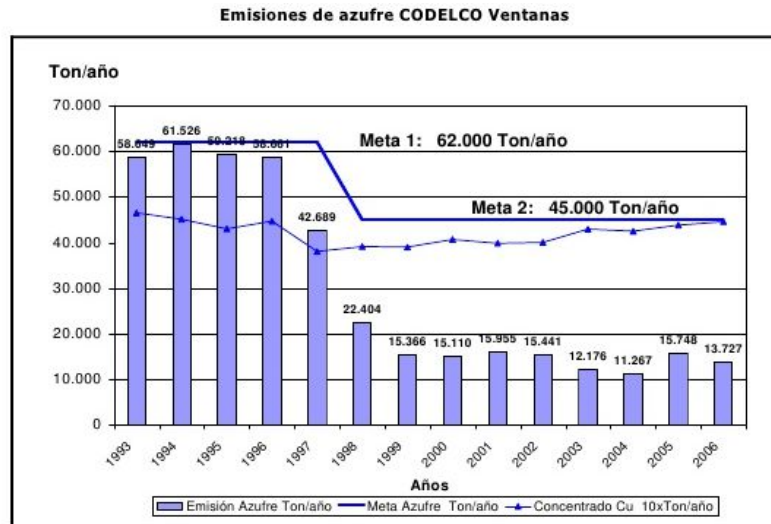
a)



b)

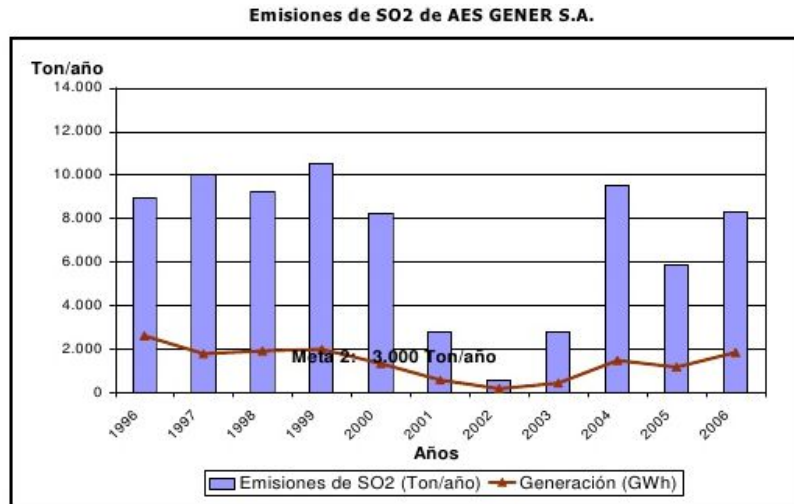


c)





d)



**Figura 44.- Emisión de PM<sub>10</sub> (a y b) y SO<sub>2</sub> (c y d) de la Fundición Ventanas hasta el año 2006, en relación a límite impuesto por el Plan de Descontaminación.**

Fuente: SEREMI de Salud Valparaíso et al., 2007

Durante el año 2003 la empresa comenzó las gestiones para implementar la norma de gestión ambiental ISO 14.001<sup>24</sup> en sus dependencias (por la empresa SGS).

La alta inversión ambiental que debió realizar ENAMI-Ventanas, así como otros conflictos económicos (disminución de cargos de tratamiento, retiro de utilidades del Fisco), provocaron un endeudamiento en la empresa, que obligó a su transferencia, ya que no podía cumplir con las obligaciones que la ley le exigía. En el año 2005, la empresa fue traspasada a manos de la Corporación Nacional del Cobre (CODELCO), el ente minero más importante del país, pasando a llamarse CODELCO División Ventanas (Romero, 2004).

En el 2006 la empresa recibió el premio al Mejoramiento del Medio Ambiente, que entrega anualmente la Asociación de Empresarios de la V Región (ASIVA), entidad que reúne a más de 150 empresarios de la zona (CODELCO, 2006).

En el año 2013 el Complejo Industrial pasa a denominarse “Clúster Industrial”.

En suma, la historia de la Fundición refleja un proceso de concientización ambiental que ha llevado a una mejora del proceso productivo, en pos del cuidado del medio ambiente. Lamentablemente, por muchos años, desde sus inicios hasta las primeras medidas ambientales, se generó un daño en el ecosistema aledaño que hasta el día de hoy no ha sido reparado y permanece como un pasivo ambiental sin solución.

---

<sup>24</sup> La ISO 14001 es una norma que se creó en 1996, impulsada por la Organización Internacional de Estandarización (International Organization for Standardization, ISO), la que plantea que cualquier organización, sin importar cuál sea su actividad, tamaño o país donde opere, puede realizar una gestión ambientalmente responsable, sobre la base del cumplimiento de la legislación nacional y el mejoramiento continuo de su desempeño.

### 3.2.2. Caracterización de la contaminación actual en Puchuncaví

#### 3.2.2.1. Calidad del aire

Como se mencionó anteriormente, a partir de la instalación de la red de monitoreo de la calidad del aire (1993), se cuenta con datos de las concentraciones de PM10 y SO<sub>2</sub> en la zona declarada como saturada, aledaña a la Fundición CODELCO Ventanas. El monitoreo se realiza mediante 5 estaciones distribuidas en las cercanías de la Fundición (Figura 27).

- Central: 1 km al sur de la Fundición
- Sur: 4,5 Km al sur de la Fundición, en el camino de entrada de Quintero
- La Greda: 1 km al NE de la Fundición,
- Los Maitenes: 2,8 Km al E de la Fundición, en el camino a la localidad de Los Maitenes
- Valle Alegre; 7 km al SE de la Fundición, en el camino a la localidad de Valle Alegre

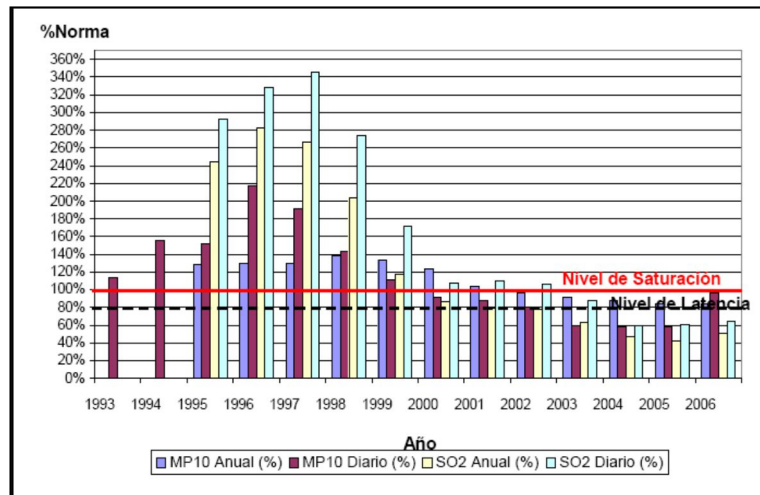
Como se ve en la Figura 45, según el último informe disponible públicamente, los porcentajes máximos de cumplimiento<sup>25</sup> de la normativa primaria han ido disminuyendo a partir del año 2002. A partir del mismo año todas las normas primarias se encuentran bajo el nivel de saturación. Entre el año 2003 y 2005 todas las normas, a excepción de la norma anual de MP10, se encuentran bajo el nivel de latencia. Sin embargo, en el año 2006 se observan niveles de latencia para la norma anual y diaria de MP10, demostrando un deterioro en la Calidad del Aire en ese año. Estas excedencias se registraron en la Greda, ubicada a 0,5 Km de la fundición (Minsal et al., 2007).

En base a esto, es posible, en lo que respecta a norma primaria, redefinir el área, de una condición de Zona Saturada por anhídrido sulfuroso (SO<sub>2</sub>) y material particulado (MP10), como lo estableció D.S. N° 346/93 (D.O.03.02.94), a una de Zona Latente por norma anual de material particulado respirable (MP10) (Minsal et al., 2007).

En cuanto a la norma secundaria (solo para SO<sub>2</sub>), durante el 2006 se registraron 16 excedencias (estaciones La Greda, Sur y Los Maitenes), por lo que la zona monitoreada por la Red Ventanas, sigue presentado condiciones de Zona Saturada para norma Secundaria de SO<sub>2</sub> (Minsal et al., 2007).

---

<sup>25</sup> Obtenidos evaluando el cumplimiento de norma para cada una de las estaciones de la Red y luego escogiendo el mayor valor registrado en el año en análisis. Este valor se ha expresado en porcentaje con respecto a la norma, tanto para facilitar la comparación entre normas, como la visualización de niveles sobre el 80% (Nivel de Latencia) y 100% (Nivel de Saturación)



**Figura 45.- Máximo Porcentaje de Norma Primaria de Calidad del Aire Registrado en la Red.**

Fuente: Minsal *et al.*, 2007

Estudios indican que CODELCO es responsable de entre el 0,6 al 50,3% del MP y de entre el 68 y 82% del SO<sub>2</sub>. El resto es producto de Gener, barcos de la bahía, vehículos (zona de alto tránsito) u otras fuentes. En general el MP es mayormente producto de fuentes móviles, debido al polvo levantado por los vehículos (las mediciones son hechas a nivel del suelo). Por ejemplo, en el sector de Los Maitenes, el MP es responsabilidad mayormente de CODELCO (50,3%); en cambio, en el sector de LA Greda, CODELCO-Ventanas es responsable solo de un 2% del MP, siendo los vehículos a motor los mayores responsables de los niveles (Figura 46, Jorquera, et al., 2007).

Esto coincide con la descripción de los vientos entregada anteriormente, que indica que éstos van predominantemente en dirección este, por lo que las localidades en esta dirección debieran ser las más afectadas por las emisiones de la fundición.

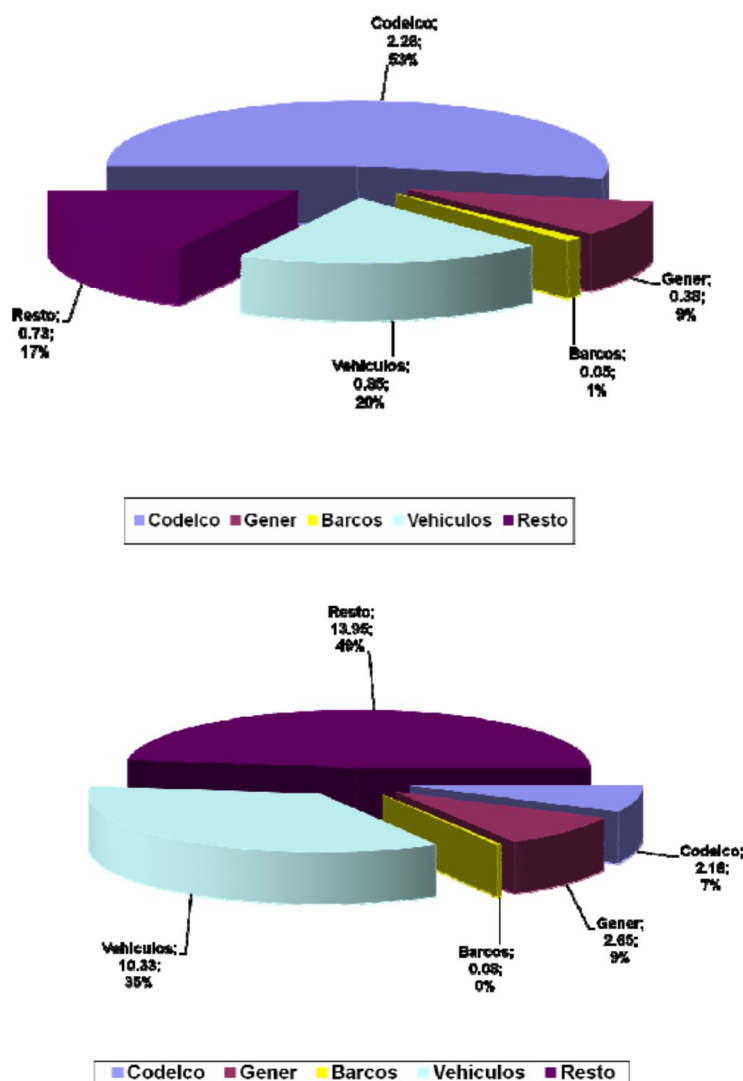


Figura 46. Participación de MP10 por fuentes emisoras en el Sector de Los Maitenes (arriba) y La Greda (abajo) en [ug/Nm<sup>3</sup>]

Fuente: Jorquera *et al.*, 2007

### 3.2.2.3. Calidad de suelos

#### Distribución de Cu, pH y otros metales en la zona aledaña a la Fundición

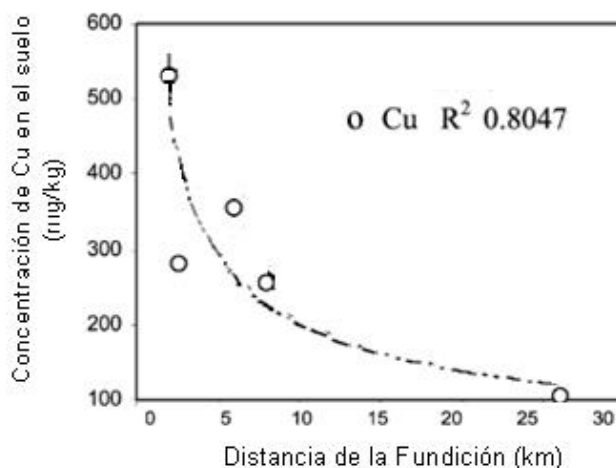
La mayoría de los estudios relativos a los efectos de la actividad industrial sobre los suelos del área de Puchuncaví-Quintero se centraron inicialmente en sectores aledaños a la Fundición, donde los efectos son más notorios. Por ejemplo, investigaciones llevadas a cabo por De Gregori *et al.* (2003), Ginocchio *et al.* (2004) y González *et al.* (2008) en sectores distantes 2-8 km de la Fundición indican que las concentraciones de Cu estaban en un rango de 255 a 3718 mg/kg. Considerando el valor de fondo definido por el estudio del Ministerio de Medio Ambiente Chileno en Puchuncaví y Quintero (ver sección 3.1.6.4.), de 68 mg/kg (PGS Chile, 2015), las concentraciones de los estudios actuales sobrepasarían varias veces lo considerado normal.

Por otro lado, los estudios mencionados también señalan que el pH de los suelos es ácido en las cercanías de la fundición, estando en un rango de 4,7-5,6 (pH

en agua). El bajo pH provoca que las formas biodisponibles de cobre aumenten en el suelo, lo que significa aún un mayor nivel de toxicidad para organismos vivos (el efecto del pH sobre disponibilidad se describió en [Anexo I, sección 1.3](#)). La acidez del suelo es derivada del fenómeno de lluvia ácida que ocurre en episodios de lluvia al reaccionar el SO<sub>2</sub> suspendido en la atmósfera con vapor de agua atmosférico (González & Berqvist, 1986; Ibáñez, 2003).

Los estudios también detectan presencia de otros elementos en las cercanías de la fundición, tales como As (30-50 mg/kg), Sb (6-7 mg/kg), Zn (150-170 mg/kg), Pb (79-104 mg/kg) y Cd (0,8-1 mg/kg). A pesar de que el Cu es el elemento que presenta mayores concentraciones en los suelos de la zona, todos los elementos presentan concentraciones mayores a las establecidas como background para la zona (ver Tabla 6). De estos, un elemento cuyas concentraciones podrían ser preocupantes a pesar de sus bajas concentraciones es el As, ya que es un probado cancerígeno. Sin embargo, la dinámica del arsénico implica que a pH ácidos se mantiene inmóvil ya que es un anión, a diferencia de los elementos metálicos. El Cd, Sb, Zn y el Pb requieren altas concentraciones para causar toxicidad en el ser humano y/ biota<sup>26</sup>.

Además, todos los elementos presentan curvas de variación, dependiendo de la distancia a la Fundición, que son proporcionales a las del Cu (Figura 47).



**Figura 47. Relación entre la concentración de arsénico y cobre en los suelos de Puchuncaví, y la distancia desde el clúster industrial Ventanas.**

Fuente: De Gregori *et al.*, 2003

#### Delimitación del área afectada por la contaminación

El conocimiento del área que afecta la contaminación cúprica es necesaria para poder determinar el área de impacto de la ésta o de cualquier investigación relacionada a procesos de remediación.

Una de las metodologías más comunes para delimitar las áreas de impacto de Fundiciones, es la simulación mediante modelos de dispersión (Ej.: Aermod, Calpuff) que utilizan datos meteorológicos, topográficos e información de la fuente de emisión para simular las concentraciones de contaminantes en el suelo (Ruz, 2001). Estos modelos permiten obtener resultados en un corto tiempo; sin embargo, tienen cierto grado de inexactitud (Dirección General de Asuntos Ambientales Mineros, 2007).

<sup>26</sup> Por ejemplo la normativa alemana propone que sobre valores de 12, 15, 530 y 720 mg/kg, para Cd, Sb, Pb y Zn respectivamente, se inicien procesos de intervención. Para As es de 55 mg/kg.

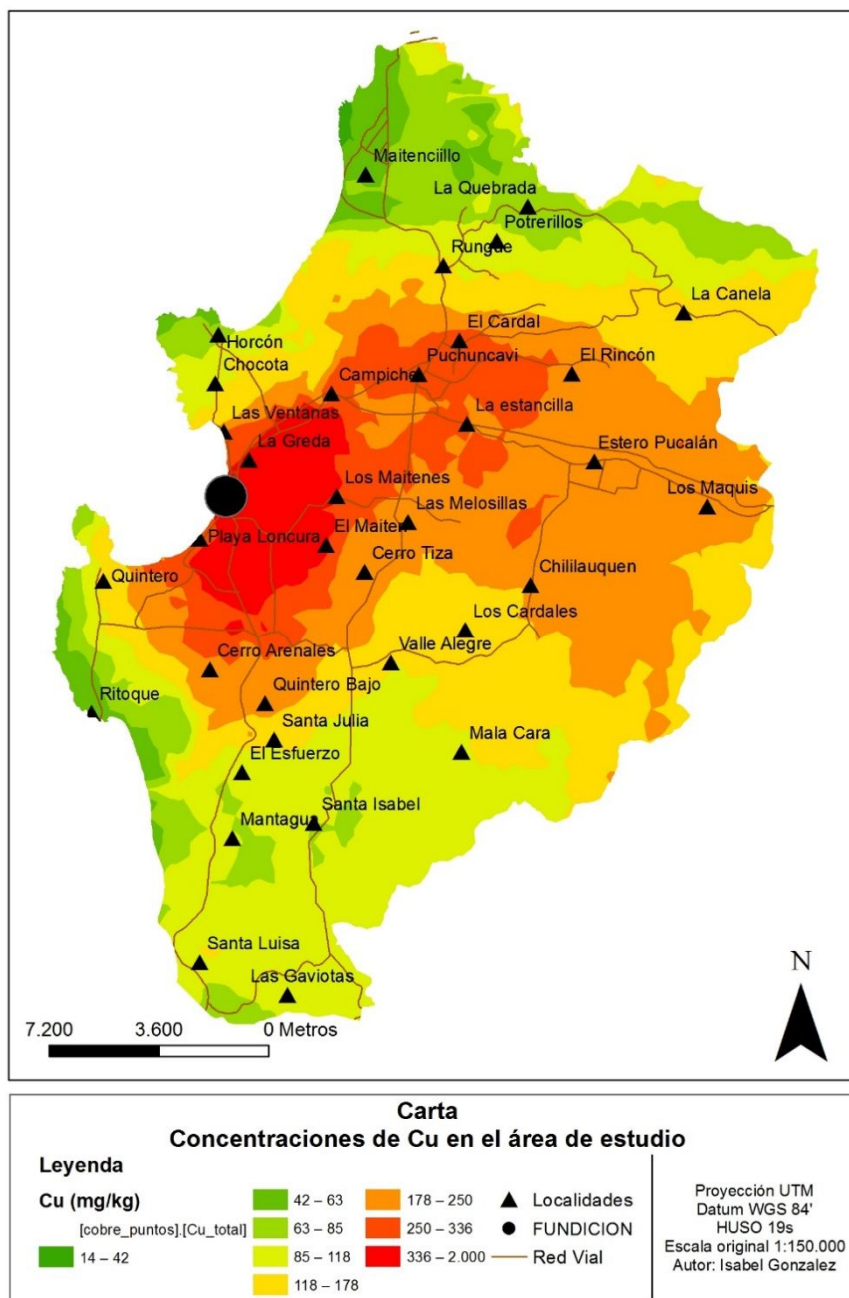
Por otro lado, en el caso de suelos, es posible realizar mediciones empíricas ya que la contaminación una vez que se deposita permanece en el lugar, más aún en el caso del Cu, que es muy poco móvil en el suelo (sin considerar procesos físicos como erosión y movimientos de tierra para construcción) (Neaman, et al., 2009).

González<sup>27</sup> y Neaman (2014) estudiaron la distribución del Cu y pH en las comunas de Puchuncaví y Quintero, realizando un muestreo en las comunas de Puchuncaví y Quintero. Se tomaron 177 muestras estableciendo un plano cartesiano que coincidía con las principales rutas de tráfico, y accediendo a caminos menores que permitieron un mayor alcance y distribución de los puntos. Las muestras se tomaron cada 2 km aproximadamente. En la Figura 48 se puede ver la distribución de Cu en los suelos. El Cu total en el área de estudio se presentó en un rango de 14 a 5.267 mg kg<sup>-1</sup> sin embargo, sólo 3 puntos de 177 superaron los 2.000 mg kg<sup>-1</sup> por lo que se consideraron outliers correspondientes a focos puntuales de contaminación, como por ejemplo, suelos muy cercanos a las escorias de fundición. La distribución de las concentraciones de Cu en el suelo superficial mostró una tendencia a mayores concentraciones en el eje este-oeste en comparación al eje norte sur. Se comprobó que existe influencia significativa de la dirección de los vientos (P=0,001), siendo las concentraciones de metales más altas en la dirección Este-Oeste (media 321 mg/kg), en comparación con la dirección Norte-Sur (media 124 mg/kg) desde el clúster industrial Ventanas. Este patrón de depósito del Cu era esperable dada la amplia planicie litoral que caracteriza al área de estudio. Además, se observó una correlación entre la distancia al clúster industrial y la concentración de Cu, siguiendo la tendencia  $y=1/x$  ( $R^2=0.46$  y  $p<0.05$ ). Cuanto más cerca al clúster industrial, mayores las concentraciones de Cu. Esta relación corroboró el origen antrópico de los contaminantes, tal como habían evidenciado otros autores anteriormente (Chiang et al., 1985; De Gregori et al., 2003).

El pH en el área de estudio se presentó en un rango 4.4-8.2, con una media de  $6.4\pm 3.2$ , siendo el pH promedio en los puntos controles de  $7.1\pm 0.6$  (Figura 49). El 65% de la superficie mostró un pH ácido (<6,7). Sin embargo a diferencia de las altas concentraciones de Cu, la zona de mayor acidez no comienza en los alrededores del clúster industrial sino que se sitúa desplazada unos 500 m al este de dicho parque. Esto se debe a que el SO<sub>2</sub> es más pequeño que el material particulado (presenta diámetros de <1 µm y <10 µm, respectivamente) (Environmental Protection Agency, 1996), por lo que es capaz de desplazarse mayores distancias (al salir de la chimenea) sin depositarse en el suelo (a menos que se presenten precipitaciones).

---

<sup>27</sup> La autora de la tesis



**Figura 48. Gradiente de concentraciones de cobre total en las comunas de Puchuncaví y Quintero obtenidas mediante interpolación de los puntos de muestreo.**

Fuente: elaboración propia

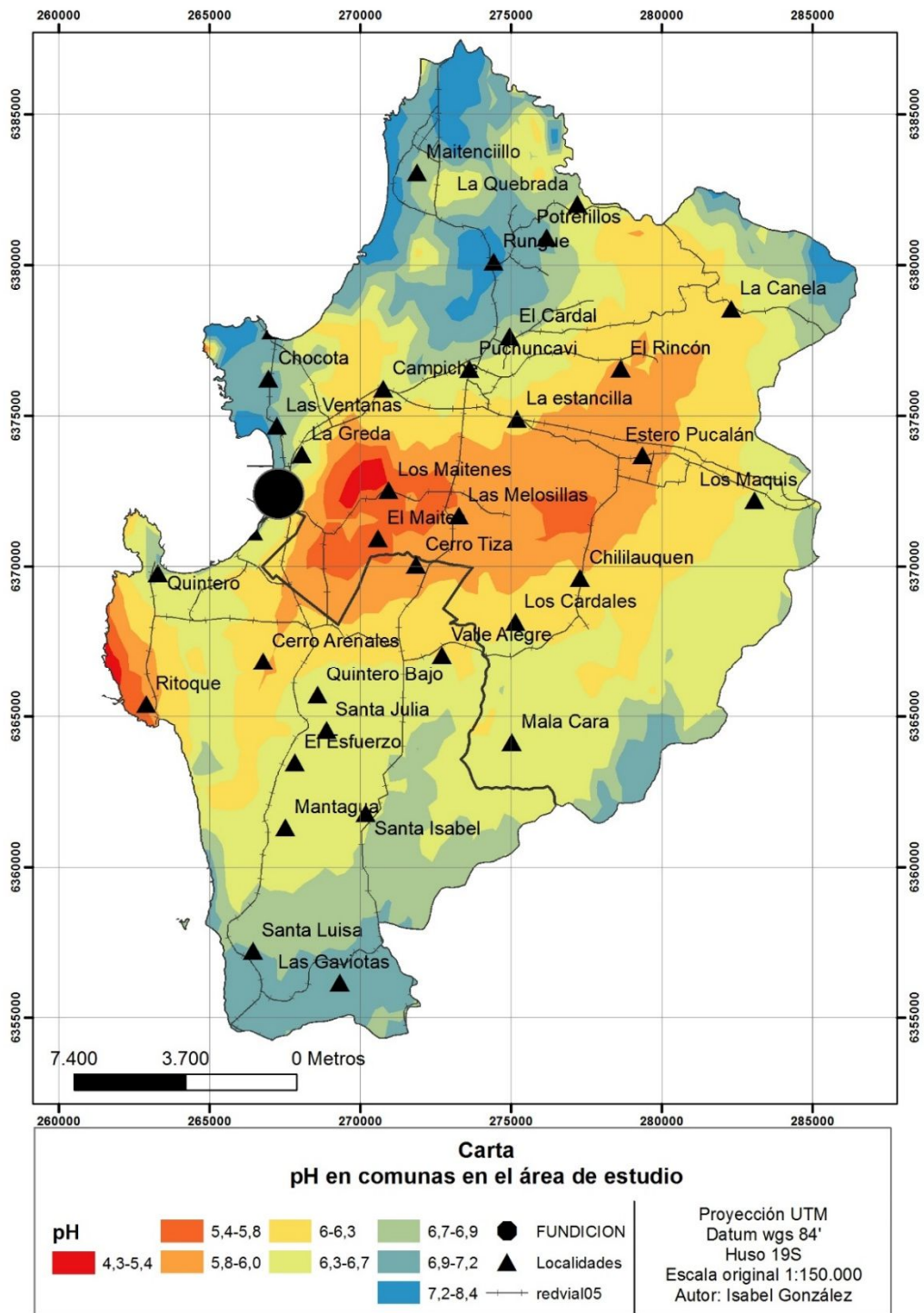
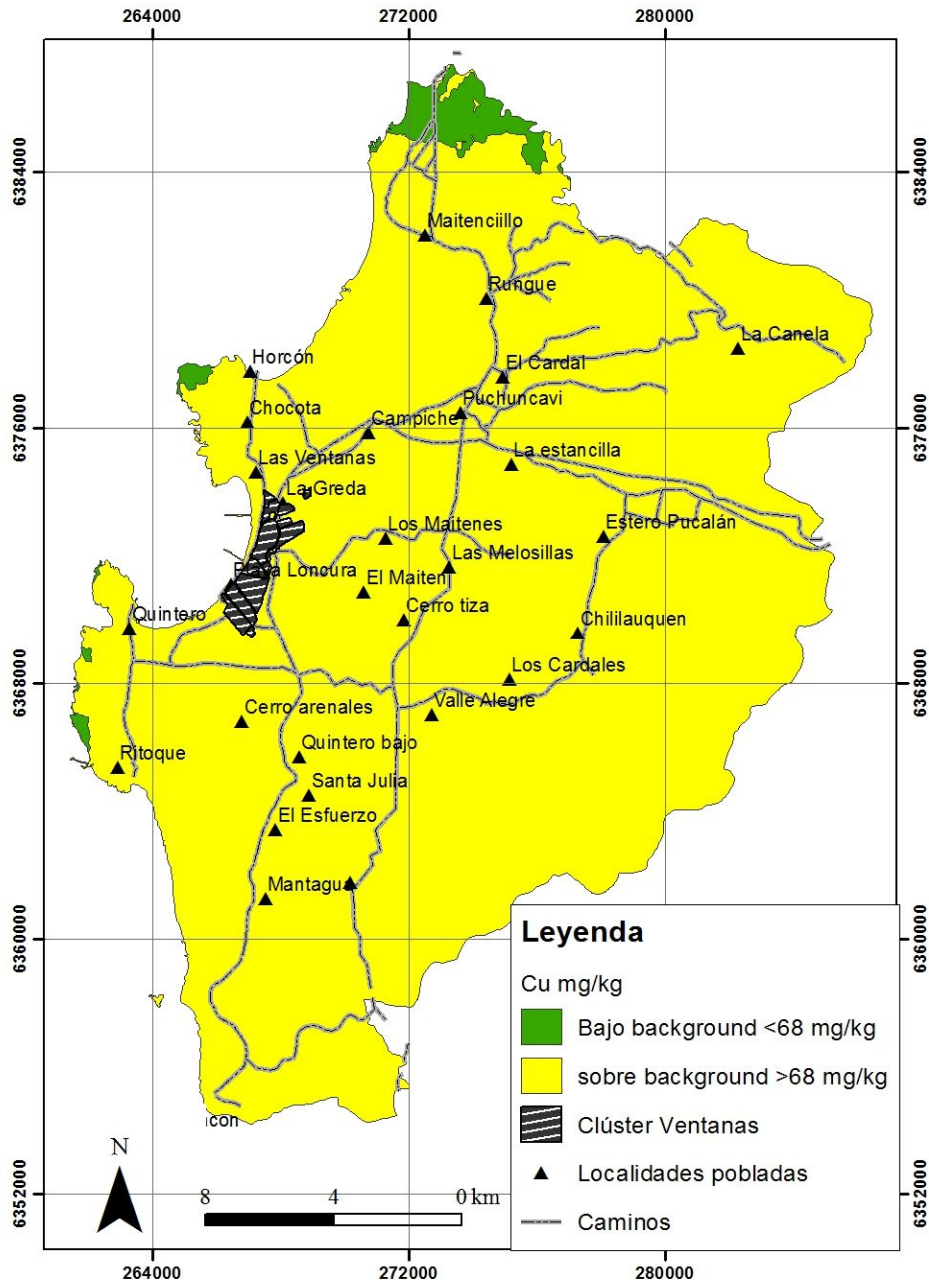


Figura 49. Gradientes de pH en el área de estudio.

Fuente: elaboración propia

En base al trabajo de González y Neaman (2014) es posible definir el área afectada por la contaminación. Para esto se consideró como referencia el valor de fondo arrojado por el estudio del Ministerio de Medio Ambiente de Chile, de 68 mg/kg (ver sección 3.1.6.4.). En base a este criterio se pudo estimar que prácticamente el 99% de la superficie de ambas comunas presenta concentraciones sobre el valor background (Figura 50).





**Figura 50. Clasificación del territorio en base a la comparación con el valor background establecido para Cu**

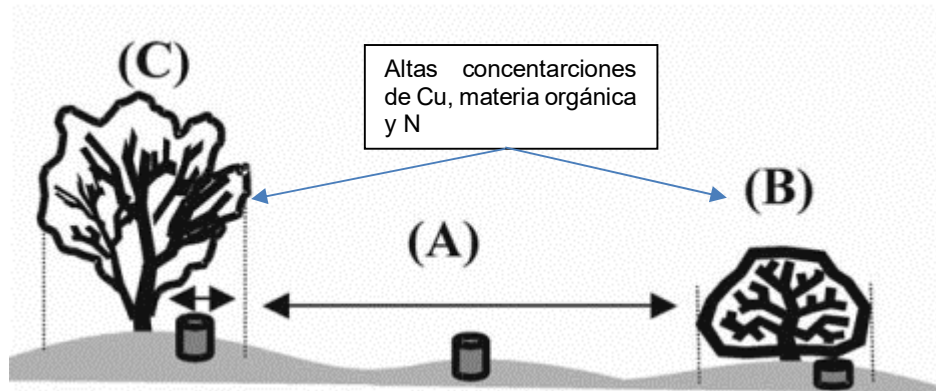
El valor background fue establecido por la consultora PGS en un estudio encargado por el Ministerio de Medio Ambiente (PGS, 2015)  
Fuente: elaboración propia

#### Distribución vertical de las concentraciones de Cu y el pH

En cuanto al origen de la contaminación, Ginocchio *et al.* (2004) y posteriormente otros autores (Ej.: Neaman *et al.*, 2009), indican que la contaminación cúprica así como el pH ácido se concentran solamente en la capa superior del suelo (0-15 cm); más abajo, las concentraciones de Cu y el pH están dentro del rango normal para el área. Esto corrobora el origen antrópico de los contaminantes ya que estos se van depositando sobre el suelo y su movilidad es reducida (se explica en el Anexo I, sección 1.1.).

## Variaciones microespaciales en las concentraciones de Cu

Ginocchio et al. (2004) indican también fuertes variaciones microespaciales de los niveles de Cu. En un área delimitada de 2.500m<sup>2</sup> a 2 Km. al S-E de la fundición, los niveles de Cu total variaron desde 45,4 mg/Kg a 3.718 mg/kg y los de Cu extractable desde 0,61 mg/kg a 34,12 mg/kg. El estudio concluye que el cobre se concentra bajo la canopia de arbustos, que actúan como receptores de partículas, mientras en espacios abiertos, el cobre es menor ya que es movilizado por el viento o movido por escorrentía (Figura 51).



**Figura 51. Esquema de los microhábitats presentes en áreas naturales del área de estudio y variación de características edáficas y contaminación**

Fuente: Ginocchio et al, 2004

### Efectos en la fertilidad y conservación del suelo

En cuanto a la fertilidad de los suelos afectados por la contaminación, Ginocchio (2000) demostró que los suelos del área circundante a la Fundición Ventanas sufrían un déficit de nitrógeno, que explicaba gran parte de los efectos sobre la cobertura.

Por último, en relación a las características físicas, los suelos afectados por la contaminación cúprica y la acidez, evidencian serios daños por erosión. Esto, debido a la desaparición de la cobertura vegetal (se detalla más adelante).

### 3.2.3. Efectos de la contaminación por Cu en Puchuncaví y Quintero

#### 3.2.3.1. Efectos sobre la salud humana

Solamente se conoce una publicación oficial sobre el efecto del material particulado y el SO<sub>2</sub> sobre la salud respiratoria de la población de Puchuncaví. El estudio reveló que existe una correlación significativa entre la concentración de material particulado en el aire y el flujo respiratorio máximo (FEM), tos, expectoración, sibilancia y disnea. A mayor concentración de MP y SO<sub>2</sub>, la FEM disminuye y aumenta la tos y expectoración en niños con síntomas respiratorios. En niños sanos, el aumento del MP y SO<sub>2</sub> disminuyó la FEM, también significativamente. El estudio concluye que existe un efecto del MP sobre la salud de la población (Sánchez et al., 1999).

El Director del Consultorio Ventanas (hasta el año 2009) Dr. Mauricio Cancino, emitió un sinnúmero de declaraciones a fuentes no formales (blogs de la ciudad de

Ventanas, seminarios ecologistas, etc.), en las cuales señalaba que el material particulado y el SO<sub>2</sub> provocan enfermedades que con el tiempo se tornan crónicas, como reacciones alérgicas inflamatorias y enfermedades de las vías respiratorias (Díaz, 2008).

Si bien el contacto dermal y la ingesta de suelos contaminados por metales significan un potencial riesgo a la salud (Li et al., 2014); no existen estudios que evidencien la existencia de enfermedades dermales o gastrointestinales debido a la exposición a suelos contaminados.

### 3.2.3.2. Efectos en los ecosistemas

Ya a partir de la década de los 60' la ganadería, donde los ovinos constituían una de las fuentes de subsistencia, desapareció en la zona cercana al clúster industrial (González & Berqvist, 1986). Algunas fuentes señalan que no es posible atribuir la desaparición de la ganadería a los efectos del clúster industrial ya que existen otros factores como los robos y la sequía, que no han sido estudiados (Malman, et al., 1995).

En la agricultura han desaparecido los cultivos de leguminosas, de gran importancia económica hace 20 años; sin embargo, esto es más atribuible al SO<sub>2</sub> presente en la atmósfera<sup>28</sup>, ya que la especie es muy sensible a éste (González & Berqvist, 1986). Alfaro (1988) determinó, en base a análisis de fotografías aéreas, que el paisaje de la zona aledaña al Clúster Industrial Ventanas cambió mucho desde su instalación. El autor señaló que el paisaje agrícola se presentaba, en 1980, extremadamente disminuido respecto de su situación inicial (Alfaro, 1988).

En relación a la vegetación silvestre, Ginocchio (2000) reportó que la riqueza de especies disminuía con la cercanía a la fundición, disminuyendo casi un 60% en los sitios más cercanos (de 42 a 17 especies) y permaneciendo solo aquellas especies con menos requerimientos de nutrientes y resistentes a la acidez y al estrés cúbico. La cobertura vegetal también ha disminuido drásticamente potenciándose con esto los procesos erosivos que actualmente dejan ver numerosas cárcavas en los sectores más descubiertos y con suelos arenosos (Figura 52).

Además, se comprobó que el banco de semillas en los sitios más contaminados era muy escaso, debido a que la escasez de cobertura dejaba las semillas sin una estructura que las protegiera del viento o la escorrentía y además las condiciones dificultaban su germinación.

Las hortalizas en los sectores de Los Maitenes, Campiche y La Greda (3,5; 3 y 0,5 km de la Fundición, respectivamente) presentan altos niveles de cobre en tejidos, desde 3 hasta 6 veces lo encontrado en un suelo normal, según lo reportado en alfalfa por De Gregori *et al.* (2000) y en Membrillos y uvas por Pinochet *et al.* (1999).

Por otro lado, en la bahía de Quintero, la pesca artesanal era una actividad muy importante. Actualmente se encuentra muy mermada por la contaminación proveniente de todas las industrias situadas en el borde costero (no específicamente la Fundición). Además, el continuo tránsito de grandes embarcaciones en la bahía, tanto para el transporte del cobre refinado como de petróleo u otros insumos de las

---

<sup>28</sup> Aunque hoy en día los niveles de anhídrido sulfuroso son mucho menores, no se han intentado cultivar leguminosas nuevamente en el área

otras industrias, muchas veces prohíbe el tránsito de los pequeños pescadores, quienes deben cada vez trasladarse más lejos para desarrollar su actividad (Ciudadano, 2008).



**Figura 52. Erosión en cárcavas en sectores descubiertos camino a la localidad de Los Maitenes. 1,5 km de la Fundición.**

Fuente: Elaboración propia, 2008

### **3.3. El costo ambiental del desarrollo económico nacional reflejado en Puchuncaví y Ventanas**

Cuando la Fundición Ventanas se instaló en la bahía de Quintero, los pobladores de las localidades aledañas se sentían orgullosos por la cercanía al nuevo polo de desarrollo económico de la región. Esa visión no tardó mucho en derrumbarse. En poco tiempo, los pobladores notaron como su calidad de vida se veía mermada por las constantes emisiones provenientes del clúster industrial; mientras, el resto del país disfrutaba de las divisas generadas por esta nueva fundición que permitía exportar productos refinados. Los afectados, mayormente de comunidades rurales, con poco poder de movimiento en masas, no pudieron hacer mucho en un inicio, ya que la falta de argumentos y de normativa que los respaldara, favorecía a las empresas. Esta situación cambió con el tiempo. Gracias a la influencia mundial y al giro político, Chile adoptó medidas para reducir el impacto de las actividades mineras. Con esto, hoy en día muchos creen que el problema está solucionado. Sin embargo, aún no se solucionan los daños históricos causados por años de emisiones no reguladas que se traducen en más del 60% de la superficie de ambas comunas afectadas por la contaminación en sus suelos, y por ende, en sus ecosistemas. Frente a esto, las personas que aún logran subsistir en las localidades cercanas al Clúster Industrial, llevan una constante lucha para hacer valer su derecho a vivir en un medio ambiente limpio, exigiendo que el daño histórico sea subsanado, para lograr frenar el continuo deterioro de los ecosistemas y demandando también que se ponga freno a la construcción de más plantas industriales en la zona, ya que hace muy poco tiempo que se logró cumplir con la normativa de calidad de aire, y agregar otras fuentes emisoras innegablemente aumentará las concentraciones atmosféricas de contaminantes, empeorando aún más la deteriorada salud de la población. Esta situación es un claro reflejo de cómo el desarrollo económico pasa por encima de los intereses del medio ambiente y de la sociedad, en este caso una sociedad rural, que actualmente está en peligro de desaparecer.

### 3.4. Bibliografía citada

Alfaro, L. (1988). Cambio de uso de suelo agrícola por efecto de la contaminación ambiental. Caso de estudio: Comuna de Puchuncaví, Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 135 pp.

Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. (2011). Mapas vectoriales. BCN. Santiago, Chile. Disponible: [http://siit2.bcn.cl/mapas\\_vectoriales/index\\_html/](http://siit2.bcn.cl/mapas_vectoriales/index_html/) [2013, 7 de octubre].

Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. (2012a). Comuna de Puchuncaví. BCN. Santiago, Chile. Disponible: <http://reportescomunales.bcn.cl/2012/index.php/Puchuncav%C3%AD/Sociales> [2016, 20 de Julio].

Biblioteca del Congreso Nacional de Chile. (2012b). Comuna de Quintero. BCN. Santiago, Chile. Disponible: [http://observatorio.ministeriodesarrollosocial.gob.cl/indicadores/pdf/comunal\\_general/valparaiso/Quintero\\_2013.pdf](http://observatorio.ministeriodesarrollosocial.gob.cl/indicadores/pdf/comunal_general/valparaiso/Quintero_2013.pdf) [2016, 20 de Julio].

Centro de Información de Recursos Naturales (1997). Estudio agrológico V región. Santiago, Chile, CIREN. 357 pp.

Centro de Información de Recursos Naturales. (2003). Estudio Agrológico X Región. Descripciones de suelos. Materiales y símbolos. Santiago, Chile. CIREN. Vol. 2. 412 p.

Chiang, J., Cornejo, P., López, J., Romano, S., Pascual, J. & Cea, M. (1985). Determinación de cadmio, cobre, manganeso, plomo, hierro, zinc y arsénico en sedimento atmosférico, en la zona de Quintero, Chile. Boletín de la Sociedad Chilena de Química, 30, 139-158.

Ciudadano, E. (2008). Contaminación Ambiental tiene a la bahía de Quintero con los días contados. Periódico El Ciudadano (on-line). Santiago. Disponible: <http://www.elciudadano.cl/2008/07/29/contaminacion-ambiental-tiene-a-la-bahia-de-quintero-con-los-dias-contados/> [2009, 20 de marzo].

COCHILCO (Comisión Chilena del Cobre). (2003). Análisis de las inversiones ambientales de las fundiciones estatales. Santiago, Chile. COCHILCO. 61 pp.

CODELCO (Corporación Nacional del Cobre). (2010). Emisiones atmosféricas. CODELCO. Santiago, Chile. Disponible: [https://www.codelco.com/prontus\\_codelco/site/artic/20110215/pags/20110215195310.html](https://www.codelco.com/prontus_codelco/site/artic/20110215/pags/20110215195310.html) [2016, 8 de julio].

CODELCO (Corporación Nacional del Cobre). (2006). Desarrollo Sustentable: publicaciones: Premian responsabilidad ambiental de Ventanas. CODELCO. Santiago, Chile. Disponible: [https://www.codelco.com/prontus\\_codelco/site/artic/20110216/pags/20110216164602.html](https://www.codelco.com/prontus_codelco/site/artic/20110216/pags/20110216164602.html) [2008, 28 de diciembre].

CODELCO (Corporación Nacional del Cobre). (2015a). CODELCO Educa: ¿Cómo se produce el cobre? CODELCO. Santiago, Chile. Disponible: [https://www.codelcoeduca.cl/procesos\\_productivos/tecnicos\\_flotacion.asp](https://www.codelcoeduca.cl/procesos_productivos/tecnicos_flotacion.asp) [2016, 22

de julio].

CODELCO (Corporación Nacional del Cobre). (2015b). Preguntas frecuentes. CODELCO. Santiago, Chile. Disponible: [https://www.codelco.com/preguntas-frecuentes/prontus\\_codelco/2011-02-28/183604.html](https://www.codelco.com/preguntas-frecuentes/prontus_codelco/2011-02-28/183604.html) [2016, 22 de junio].

Consejo Ecológico Comunas de Quintero y Puchuncaví (2006). Situación medio ambiental de la bahía de Quintero. Presentaciones ante Comisiones de Medio Ambiente Cámaras de Diputados y Senadores. Valparaíso, Fundación Terram: No+Carbón.

De Gregori, I., Lobos, G., Lobos, S., Pinochet, H., Potin-Gautier, M. & Astruc, M. (2000). Copper and selenium in rainwater, soils and alfalfa from agricultural ecosystems of Valparaíso region, Chile. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 45(1), 131-146.

De Gregori, I., Fuentes, E., Rojas, M., Pinochet, H. & Potin-Gautier, M. (2003). Monitoring of copper, arsenic and antimony levels in agricultural soils impacted and non-impacted by mining activities, from three regions in Chile. *Journal of Environmental Monitoring*, 5, 287-295.

Díaz, A. (2008). Rechazan posible compensación: Dióxido de azufre y material particulado causan enfermedades crónicas en la población. *El Mercurio de Valparaíso on-line*. Valparaíso, Chile.

Dirección General de Asuntos Ambientales Mineros. (2007). Guía para la evaluación de impactos en la calidad del aire por actividades minero metalúrgicas. Lima, Perú. Ministerio de Energía y Minas. 128 p.

Dirección Meteorológica de Chile. (2008). Climatología de ciudades. Disponible: [http://www.meteochile.cl/climas/climas\\_localidades.html#quintero](http://www.meteochile.cl/climas/climas_localidades.html#quintero) [2008, 30 de Julio].

Environmental protection Agency. (1996). Air Quality Criteria for Particulate Matter (Final Report). EPA. Washington, USA. Disponible: <http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/recordisplay.cfm?deid=2832> [2013, 3 de julio].

ENAMI (Empresa Nacional de Minería). (2016). Historia. ENAMI. Copiapó, Chile. Disponible: <http://www.enami.cl/acerca-de-enami/quienes-somos/historia.html> [2016, 22 de julio].

Folchi, M. (2003). La insustentabilidad del boom minero chileno: política y medio ambiente 1983-2003. *Ecología Política* (Barcelona): 23-49 pp.

Gastó, J., Cosío, F. & Silva, F. (1990). Pastizales Andinos de Sudamérica. Reinos, Dominios y Provincias. Santiago, Chile, Red de Pastizales Andinos (REPAAN).

Gener S.A. (2008). GENER: Historia. GENER S.A. Santiago, Chile. Disponible: <http://www.gener.cl/AESGenerWebNeo/index.aspx?channel=6153> [2008, 27 de Diciembre].

Ginocchio, R., Carvallo, G., Toro, I., Bustamante, E., Silva, Y. & Sepúlveda, N. (2004). Micro-spatial variation of soil metal pollution and plant recruitment near a copper smelter in central Chile. *Environmental Pollution*, 127(3), 343-352.

Ginocchio, R. (2000). Effects of a copper smelter on a grassland community in the

Puchuncaví Valley, Chile. *Chemosphere*, 41(1-2), 15-23.

González, S. & Berqvist, E. (1986). Evidencias de contaminación con metales pesados en un sector del secoano costero de la V Región. *Agricultura Técnica (Chile)*, 46(3), 299-306.

González, I., Neaman, A., Rubio, P. & Cortés, A. (2014). Spatial distribution of copper and pH in soils affected by intensive industrial activities in Puchuncaví and Quintero, central Chile. *Journal of soil science and plant nutrition*, 14, 943-953.

González, I., Mueña, V., Cisternas, M. & Neaman, A. (2008). Acumulación de cobre en una comunidad vegetal afectada por contaminación minera en el valle de Puchuncaví, Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural*, 81(2), 279-291.

Honorato, R. (1993). *Manual de Edafología*. Santiago, Chile, Ediciones Universidad Católica de Chile. 241 pp.

Ibáñez, C. (2003). *El cobre y su inserción en el mundo: como cobrar el sueldo de Chile*. Santiago, Chile. Fundación Terram. 72 p.

INE (Instituto Nacional de Estadísticas). (2002). *Censo Nacional*. Instituto Nacional de Estadísticas.

Instituto Nacional de Estadísticas. (2008). *División Político Administrativa y Censal, 2007*. INE. 358 p.

Isolux Corsán. (2007). *Estudio de Impacto Ambiental: Central Termoeléctrica a carbón, Río Turbio, Santa Cruz*. Grupo Isolux Corsán S.A y Otros. Santa Cruz, Argentina. Disponible: [http://www.santacruz.gov.ar/ambiente/audiencia/CD%20EIA%20CTRT/Cap%2007%20-%20Impactos/1%20-%20Modelos%20y%20Estudios%20Especiales/EIA%20CTRT-Cap7%20Punto%204%20An%20C3%A1lisEcotox\\_Rv2.pdf](http://www.santacruz.gov.ar/ambiente/audiencia/CD%20EIA%20CTRT/Cap%2007%20-%20Impactos/1%20-%20Modelos%20y%20Estudios%20Especiales/EIA%20CTRT-Cap7%20Punto%204%20An%20C3%A1lisEcotox_Rv2.pdf) [2008, 27 de diciembre].

Jorquera, H., Castro, J. & Espejo, A. (2007). *Estimación de impacto en la calidad del aire de las emisiones de la zona de Ventanas*. Santiago, Chile, Pontificia Universidad Católica de Chile, Municipalidad de Puchuncaví.

Klingebiel, A. & Montgomery, P. (1961). *Land-capability classification*. Washington D.C., Soil Conservation Service, U.S. Department of Agriculture (USDA). 21 pp.

Köppen, W. (1923). *Die Klimate der erde, Grundrib der Klimakunde*. Berlín, Leipzig, De Gryter.

Li, Z., Ma, Z., van der Kuijp, T. J., Yuan, Z. & Huang, L. (2014). A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment. *Science of The Total Environment*, 468–469, 843-853.

Malman, S., Sabatini, F. & Geisse, G. (1995). *El trasfondo socioeconómico del conflicto ambiental en Puchuncaví*. CIPMA. 11: 49-58 pp.

Maureira, L. & Ruiz, P. (2012). *La contribución del diálogo social para cambiar las prácticas laborales y la forma de producción en la fundición y refinera de Ventanas en la década de los noventa en Chile: lecciones y aprendizajes para promover los empleos verdes en las industrias ambientalmente sensibles*. Santiago, Chile. Oficina

Internacional del Trabajo. 40 pp.

Millissen, C. (2003). Utilización de anillos de crecimiento de ciprés (*Cupressus macrocarpa* Hartw.) para inferir el patrón temporal de contaminación en Ventanas, V región. Área de hortalizas y flores, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. Quillota, Chile. 59 pp.

Ministerio de Medio Ambiente. (2013). Estudios Ambientales en las comunas de Concón, Quintero y Puchuncaví. MMA. Santiago, Chile. Disponible: <http://www.mma.gob.cl/1304/w3-article-55902.html> [2014, 25 de marzo].

Ministerio de Minería (1992). Reglamenta funcionamiento de establecimientos emisores de anhídrido sulfuroso, material particulado y arsénico en todo el territorio de la república, Diario Oficial. D.S N° 185: 22 pp.

Ministerio de Obras Públicas & Secretaría de Obras Públicas (2014). Decreto 31/4/198. Promulga Plan Regulador Metropolitano de Valparaíso. Santiago, Chile, Biblioteca del Congreso Nacional de Chile (BCN). Decreto 31: 40 pp.

MIDEPLAN (Ministerio de Planificación). (2006). Casen 2006. Encuesta de Caracterización Socioeconómica y Social. Documento metodológico. Santiago, Chile. MIDEPLAN. 97 p.

MINSAL (Ministerio de Salud), CONAMA (Comisión Nacional del Medio Ambiente) & SAG (Servicio Agrícola y Ganadero). (2007). Plan de descontaminación de Ventanas 1993-2006. Santiago, Chile. 46 p.

Neaman, A., Reyes, L., Trolard, F., Bourrié, G. & Sauvé, S. (2009). Copper mobility in contaminated soils of the Puchuncaví valley, central Chile. *Geoderma*, 150(3-4), 359-366.

Ormeño, M., Gramsch, E., Villegas, R. & Catalán, L. (2002). Efecto del viento sobre la dispersión del material particulado en Santiago de Chile. XIII Simposio Chileno de Física, Concepción, Universidad Católica del Norte.

Orr, P. & Dávila, J. (1992). Desarrollo de recursos locales y protección ambiental en un ecosistema costero degradado. 4° Encuentro Científico sobre el Medio Ambiente Gestión Ambiental: Desarrollo hoy sin arriesgar el mañana, Valdivia, Chile, CIPMA.

PGS Chile. (2015). Muestreo de suelos para las comunas de Quintero y Puchuncaví, región de Valparaíso. Santiago, Chile. Ministerio de Medio Ambiente. 128 p.

Pinochet, H., De Gregori, I., Lobos, G. & Fuentes, E. (1999). Selenium and copper in vegetables and fruit grown on long-term impacted soils from Valparaíso region, Chile. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63(3), 327-334.

Quintana, J. (1999). La sequía en Chile y el fenómeno de la niña. Colegio de Meteorólogos de Chile. Disponible: [http://www.meteorologos.cl/juan\\_quintana.htm](http://www.meteorologos.cl/juan_quintana.htm) [2008, 21 de Agosto].

Romero, M. (2004). Diputados aprueban traspaso de Ventanas a CODELCO. Cámara de Diputados. Valparaíso, Chile. Disponible: <http://www.camara.cl/diario/noticia.asp?vid=9904> [2008, 28 de diciembre].

Ruz, A. (2001). Desarrollo de un modelo de simulación para evaluar el horizonte de



contaminación con cobre de bosques esclerófilos. Grado de Magíster en Gestión y Planificación Ambiental. Programa Interfacultades., Universidad de Chile 125 pp.

Sabatini, F., Mena, F. & Vergara, P. (1996). El conflicto ambiental de Puchuncaví bajo democracia. *Ambiente Hoy*, XII (4), 30-40.

Sánchez, J., Romieu, I., Ruiz, S., Pino, P. & Gutiérrez, M. (1999). Efectos agudos de las partículas respirables y del dióxido de azufre sobre la salud respiratoria en niños del área industrial de Puchuncaví, Chile. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 6(6), 384-391.

Santibañez, F. & García, A. (2000). Estado del Medio Ambiente en Chile-1999. Santiago, LOM Ediciones. 220 pp.

Secretaría Ministerial de Vivienda y Urbanismo de la región de Valparaíso. (2004). Diagnóstico Ambiental a la Modificación al Plan Regulador Intercomunal de Valparaíso en el Área Metropolitana de Valparaíso y Satélite Borde Costero Quintero-Puchuncaví. Santiago, Chile. Corporación Chile Ambiente. 162 p.

SEREMI de Salud Valparaíso, SAG (Servicio Agrícola y Ganadero) & SEREMI del Medio Ambiente. (2007). Informe de seguimiento: Plan de descontaminación de Ventanas 1993-2006. Santiago, Chile. 46 p.

SINIA (Sistema Nacional de Información Territorial Ambiental). (2002). Uso de suelo. V Región. Santiago. SINIA.

Turismo Chile. (2008). Guía Turística: Puchuncaví. Las Condes, Santiago, Chile. Disponible: <http://www.turismochile.com/guia/puchuncavi/articulos/979> [2008, 25 de Agosto].

Verdejo, A. & Fernández, P. (2006). Plan de Desarrollo Comunal Quintero. Secretaría de Planificación, Municipalidad de Quintero. Quintero, Valparaíso, Chile. Disponible: <http://www.muniquintero.cl/archivos/pladeco.pdf> [2 de diciembre del 2008, 2 de diciembre del 2008].

**CAPITULO IV**  
**JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



#### 4.1. Justificación de la investigación

La recopilación de antecedentes realizada en los capítulos anteriores permitió sentar las bases para definir la investigación. A continuación se resumen las premisas que permitieron justificar y estructurar la hipótesis, objetivos y metodología de la investigación propuesta:

- El Cu es un micronutriente esencial para el ser humano y las plantas; sin embargo, su exceso causa graves daños en los organismos, conduciéndolos, en casos extremos a la muerte.
- La contaminación de suelos por cobre puede provocar serios daños en los ecosistemas naturales por toxicidad en las especies vegetales, lo que provoca la pérdida de cobertura y con esto la erosión y empobrecimiento de la calidad nutricional de los suelos, afectando asimismo a toda la cadena trófica. Asimismo dicha contaminación puede, a través de diversas vías de exposición, afectar la salud de las personas que están en contacto con el suelo.
- La contaminación del suelo por cobre proviene principalmente de dos fuentes: la agricultura y la minería, siendo esta última de mayor relevancia en Chile.
- En Chile la minería generó por muchos años graves daños ambientales ligados a la explotación de yacimientos, el depósito no regulado de materiales de descarte y a las emisiones de fundición. En el caso de las fundiciones de Cu, estos provocaron contaminación atmosférica en las zonas aledañas a las chimeneas y, con ello, la contaminación de los suelos aledaños por la deposición de los contaminantes aéreos. Este es el caso de la zona limítrofe entre las comunas de Puchuncaví y Quintero, donde funciona la fundición CODELCO Ventanas hace más de 50 años.
- Hoy en día, la conciencia ambiental se ha desarrollado en la población y en la empresa nacional, gracias tanto a la influencia internacional como a un proceso de maduración a nivel nacional, como consecuencia a hechos históricos ligados a desastres ambientales. Ya hace un par de décadas, se han tomado medidas para disminuir el impacto de la actividad minera, contándose, entre otras regulaciones, con normativas para las emisiones de contaminantes por las fundiciones, para el cierre de tranques de relave, y con normativas de calidad ambiental para aire y agua. Sin embargo, aún no existe normativa ligada a la calidad de los suelos, lo que se debe en parte a la complejidad de normar al respecto, dada la gran diversidad de fondos geológicos existentes y la carencia de estudios de línea de base y de riesgo, que permitan generar normativa adecuada.
- Los impactos causados en el pasado, y de los cuales nadie se hace directamente responsable se denominan hoy “Pasivos Ambientales” (PAMs). Hasta la actualidad en Chile no se han tomado medidas a nivel gubernamental, para solucionar el problema de los Pasivos Ambientales Mineros acumulados en el pasado. Se prevé que en el mediano plazo se

promulgará una ley sobre la remediación de pasivos ambientales, cuya ejecución y financiamiento, estará en manos de las empresas responsables, con alguna subvención del gobierno. Asimismo, aunque en Chile no existe normativa de calidad de suelos, a nivel institucional ya se está evaluando la posibilidad de generar estándares, los que incluirían niveles de metales en el suelo<sup>29</sup>. La generación de esta normativa implicaría que las empresas mineras, probablemente en conjunto con el estado, deberían iniciar acciones para remediar los suelos afectados por sus actividades, con el fin de alcanzar los valores propuestos, en un determinado período de tiempo.

- Como una forma de prever la futura situación legal, muchas empresas mineras han apoyado investigaciones, mayormente en Universidades o Centros de Investigación, orientadas a buscar técnicas que permitan remediar los pasivos ambientales. Paralelamente algunas Universidades han desarrollado líneas de investigación relacionadas al tema, financiadas por fondos de apoyo a la investigación aplicada (Fondecyt, FONDEF, CORFO, fondos internacionales).
- Entre las alternativas tecnológicas que se han estudiado, la fitorremediación, es decir, el uso de plantas para la descontaminación, se vislumbra como una excelente candidata, ya que los antecedentes indican que sus costos son mucho menores al de las técnicas tradicionales de remediación (físicas o químicas), permite recuperar en parte el valor paisajístico de áreas afectadas, y, en el caso de los suelos, no altera su composición ni estructura, permitiendo usos alternativos.
- La investigación y aplicación actual de la fitorremediación en Chile se orienta casi exclusivamente a la fitoestabilización de tranques de relave. Prácticamente nada se ha hecho en el ámbito de la fitorremediación de suelos. Esto probablemente se deba a que el número de relaves es muy superior y además estos son mucho más notorios que los sectores afectados por contaminación de fundiciones, por lo que su remediación es más prioritaria para las autoridades. Además, la gran superficie que implica el área de impacto de una fundición, se vislumbra como una dificultad a la hora de implementar una tecnología de remediación a gran escala. Sin embargo, ante la posibilidad de la generación de normativa de calidad para suelos y de remediación de pasivos, será necesario evaluar posibilidades de remediación para estos sectores. Esta realidad ya está siendo asumida por las empresas mineras en los últimos años quienes han impulsado pequeños proyectos exploratorios de alternativas de remediación de suelos (con técnicas físico-químicas y biológicas).
- En consecuencia, la fitorremediación de suelos afectados por fundiciones mineras, constituye un nicho investigativo que aún no se ha desarrollado en el país, y cuya importancia es creciente, dada la actual dinámica de la legislación ambiental en el país.
- Entre las alternativas de fitorremediación para los suelos contaminados por cobre de Chile, se encuentran la fitoestabilización y fitoextracción. A pesar de que la fitoestabilización es una técnica más rápida y sencilla, no remueve los contaminantes del suelo, sino que solamente inmoviliza las fracciones más móviles en el suelo, lo que requeriría monitoreo permanente. Además la técnica no sería útil para darle otros usos a los suelos (por ejemplo recuperarlos para agricultura), ya que la cobertura debe permanecer en el

---

<sup>29</sup> Como avances, en el 2006 el MMA elaboró un documento de "criterios para la elaboración de una ley macro de conservación de suelos" que mencionaba entre otros objetivos, la prevención de la contaminación minera y la recuperación de áreas degradadas. El año 2015 el Ministerio de Medio Ambiente licitó un estudio de muestreo de suelos en las comunas de Puchuncaví y Quintero, donde además se hizo un estudio de valores background en áreas no contaminadas, con similar fondo geológico. Esta información servirá de bases para la elaboración de una futura normativa de calidad de suelos.

suelo (no se cosecha), sin posibilidad de darle otros usos. La fitoextracción en cambio permite remover los contaminantes definitivamente del suelo, en cantidades que dependen de su biodisponibilidad, además de la capacidad de extracción de la planta. Además permite usos posteriores del suelo, ya que las plantas se cosechan una vez que extraen los metales. Se propuso en consecuencia y por sus ventajas comparativas evaluar la fitoextracción como alternativa de descontaminación. Además se prevé que será una alternativa más atractiva para tomadores de decisiones y para la comunidad en general.

- Las limitantes asociadas a la fitoextracción son: la dificultad de encontrar especies hiperacumuladoras, debiéndose trabajar solo con especies acumuladoras, la baja producción de biomasa que tienen las especies que acumulan grandes cantidades de metales, y la baja biodisponibilidad de metales en el suelo (dependiendo esta de factores como el pH, la materia orgánica, la textura, etc.). Todos estos factores afectan el tiempo requerido para descontaminar el suelo y llegar a niveles considerados “fuera de riesgo”<sup>30</sup>. Períodos de más de 10 años se consideran demasiado largos en términos prácticos dado principalmente la rotación de las autoridades que toman las decisiones sobre los procesos de descontaminación y la presión pública por resultados rápidos. En condiciones naturales es muy difícil que se conjuguen las condiciones ideales para desarrollar un proceso de fitoextracción eficiente.
- Dadas sus limitantes, se han desarrollado múltiples estrategias para mejorar la eficiencia de la fitoextracción. Entre ellas, se han estudiado los mejoramientos agronómicos, el mejoramiento genético, la aplicación de agentes quelantes al suelo, la aplicación de micorrizas, la aplicación de hormonas de crecimiento entre otros. Estas estrategias han arrojado resultados muy variables, dependiendo de las especies estudiadas, las condiciones del suelo que se desea remediar, las condiciones climáticas (o regímenes hídricos), las especificaciones de la práctica de mejoramiento utilizada y el o los elementos que se desean remover.
- En consecuencia, en esta investigación se propuso evaluar el efecto de un conjunto de estrategias de mejoramiento de la extracción, sobre la capacidad de extracción de Cu de especies metalófitas nativas, en los suelos afectados por contaminación cúprica de las comunas de Puchuncaví y Quintero (Chile central). Mediante estos mejoramientos se esperó obtener una metodología de fitorremediación factible para ser aplicada a gran escala en el área de estudio.

## 4.2. Hipótesis

Es posible, en base al conocimiento experimental sobre la capacidad de extracción de especies nativas acumuladoras y los efectos de distintas técnicas de mejoramiento de la extracción de dichas especies, proponer una solución eficiente y sostenible para remediar a escala real los suelos contaminados por cobre de las comunas de Puchuncaví y Quintero.

## 4.3. Objetivo general

Obtener una metodología eficiente y sostenible para la remediación a escala real del territorio contaminado por cobre de las comunas de Puchuncaví y Quintero

---

<sup>30</sup> Si bien la mayoría de la normativa existente a nivel internacional considera fracciones totales para definir niveles “fuera de riesgo” (a la salud o biota), la investigación científica, cada vez más abundante indica que el riesgo a la salud y a la biota depende de la fracción biodisponible, no de la total. En esta tesis se considerarán los valores biodisponibles en un suelo normal (niveles background de Cu disponible) para definir el nivel objetivo al cual se desea llegar con la remediación del suelo (target value) (ver Anexo I, sección 3.1 y 3.2)

en base a la mejora de las capacidades extractivas de especies nativas acumuladoras.

#### 4.4. Objetivos específicos

1. Conocer todas las posibles estrategias de biorremediación a aplicar en la gestión de una amplia área contaminada por cobre
2. Conocer el comportamiento del cobre y sus fracciones en el área de estudio
3. Determinar para las especies acumuladoras *de Cu Oenothera picensis*, *Argemone subfusiformis* y *Baccharis linearis* el número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una unidad de superficie de suelo contaminado en Puchuncaví y Quintero hasta niveles que no impliquen riesgos para el ser humano y el medio ambiente.
4. Seleccionar estrategias de mejoramiento que aumenten significativamente la extracción de cobre en *Oenothera picensis*, *Argemone subfusiformis* y *Baccharis linearis*.  
Para su selección, los objetivos son:
  - a) Identificar enmiendas agrícolas que permitan aumentar la extracción de Cu en las especies estudiadas.
  - b) Identificar el estado fenológico en que las especies estudiadas presentan la mayor concentración de cobre en la parte aérea (momento ideal de cosecha).
  - c) Determinar el efecto de la adición de un quelante biodegradable al suelo, sobre la solubilidad del Cu y su extracción por parte de *O. picensis*.
  - d) Obtener mediante selección fenotípica, semilla de individuos fenotípicamente homogéneos con una media de extracción de cobre mayor que la población original, para cada especie.
  - e) Seleccionar para cada especie, las estrategias de mejoramiento más eficientes
5. Identificar la combinación entre estrategia(s) seleccionada(s) y especie que logren la mayor eficiencia en la remoción de cobre.
6. Determinar si la combinación estrategia(s)-especie seleccionada permitió la reducción del tiempo de remediación del suelo a un período menor a 10 años.
7. Elaborar una guía de fitoextracción de cobre para las características específicas de los suelos de Puchuncaví y Quintero, considerando las implicancias técnicas y económicas de lo que aplicar la técnica a gran escala significa<sup>31</sup>.

En la Figura 53 se presenta el flujograma general de desarrollo de la investigación, según los objetivos específicos planteados. El objetivo 1 fue logrado mediante la revisión del estado del arte desarrollada previo a este capítulo. El objetivo 2 se logró a lo largo del desarrollo de la tesis gracias al profundo conocimiento del suelo de la zona de estudio y sus propiedades. Para la determinación del número de ciclos necesarios para remediar un suelo, se cultivaron las plantas sin tratamiento a lo largo de un año, evaluándose la extracción por parte de éstas. Luego se desarrolló el segundo objetivo, que es el de mayor extensión temporal y que implicó el desarrollo de 4 ensayos paralelos (*in situ* o *ex situ*, desde el año 2008 al 2010). Posteriormente,

---

<sup>31</sup> Este objetivo se desarrollará solo de aceptarse la hipótesis planteada

las estrategias seleccionadas se aplicaron en un mismo ensayo de campo que permitió determinar si es más eficiente aplicar las estrategias seleccionadas en conjunto o por separado y que permitió también identificar la especie que arrojó mejores resultados en la extracción, una vez aplicadas las estrategias de mejoramiento. Una vez que se concluyó el desarrollo del objetivo 5, se pudo dar respuesta a la hipótesis, es decir, se determinó si fue realmente posible elaborar una técnica eficiente de fitoextracción, es decir, disminuir el tiempo de remediación a un período igual o menor a 10 años. Si la hipótesis se aceptaba entonces se procedería a evaluar las implicancias técnicas de llevar la técnica, con la especie y estrategias de mejoramiento seleccionadas, a gran escala, objetivo que abarcaría un período de 3 meses aproximadamente. Finalmente, se recopilaría toda la información para elaborar una metodología de remediación de suelos para el área en estudio, la cual podría ser aplicable en zonas de similares condiciones.

### **3.3. Grado de innovación de la tesis planteada**

Es posible afirmar, que la investigación propuesta es fundamentalmente innovadora ya que

- No se han realizado anteriormente estudios aplicados de fitoextracción de suelos en el país.
- La mayoría de las investigaciones evalúan estrategias de mejoramiento de la fitoextracción en forma individual. En este estudio se propuso evaluar las estrategias que entreguen mejores resultado en forma individual, para después aplicarlas en conjunto.
- En esta investigación se utilizaron especies acumuladoras identificadas y propuestas por la misma autora, características de la misma área de estudio. La mayoría de las investigaciones trabajan en base a especies conocidas, identificadas por otros autores.
- La mayoría de las investigaciones científicas estudian las estrategias de mejoramiento de la fitoextracción en condiciones controladas. En este estudio se evaluaron las estrategias en condiciones de campo, con el fin de evaluar su aplicabilidad a gran escala
- La mayoría de los estudios actuales basan en éxito de un proceso de remediación en la disminución de las fracciones totales de contaminantes. En esta tesis se utilizó el nuevo enfoque sobre la determinación de riesgos. Este nuevo enfoque considera los valores biodisponibles de los contaminantes para la determinación de los reales riesgos para la salud y la biota y por lo tanto considera también esta fracción para determinar los valores objetivos de remediación.

Se debe indicar además que la investigación fue de carácter prospectivo ya que parte de una causa, que es la aplicación de técnicas de mejoramiento de la fitoextracción, para investigar cuales serán la consecuencias, que se esperaba fuese la disminución del número de ciclos necesarios para descontaminar los suelos, en comparación a la situación sin mejoramiento.



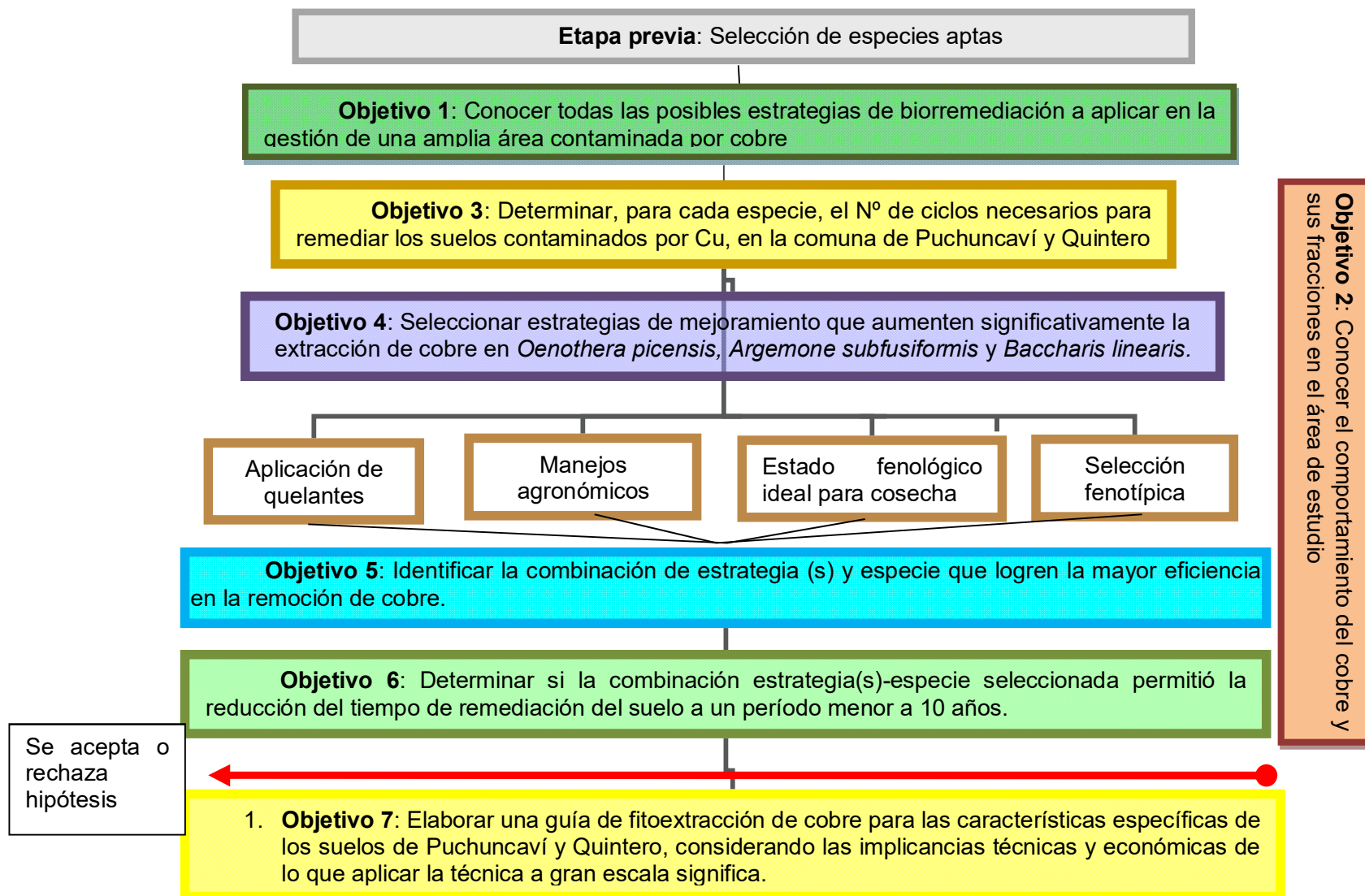
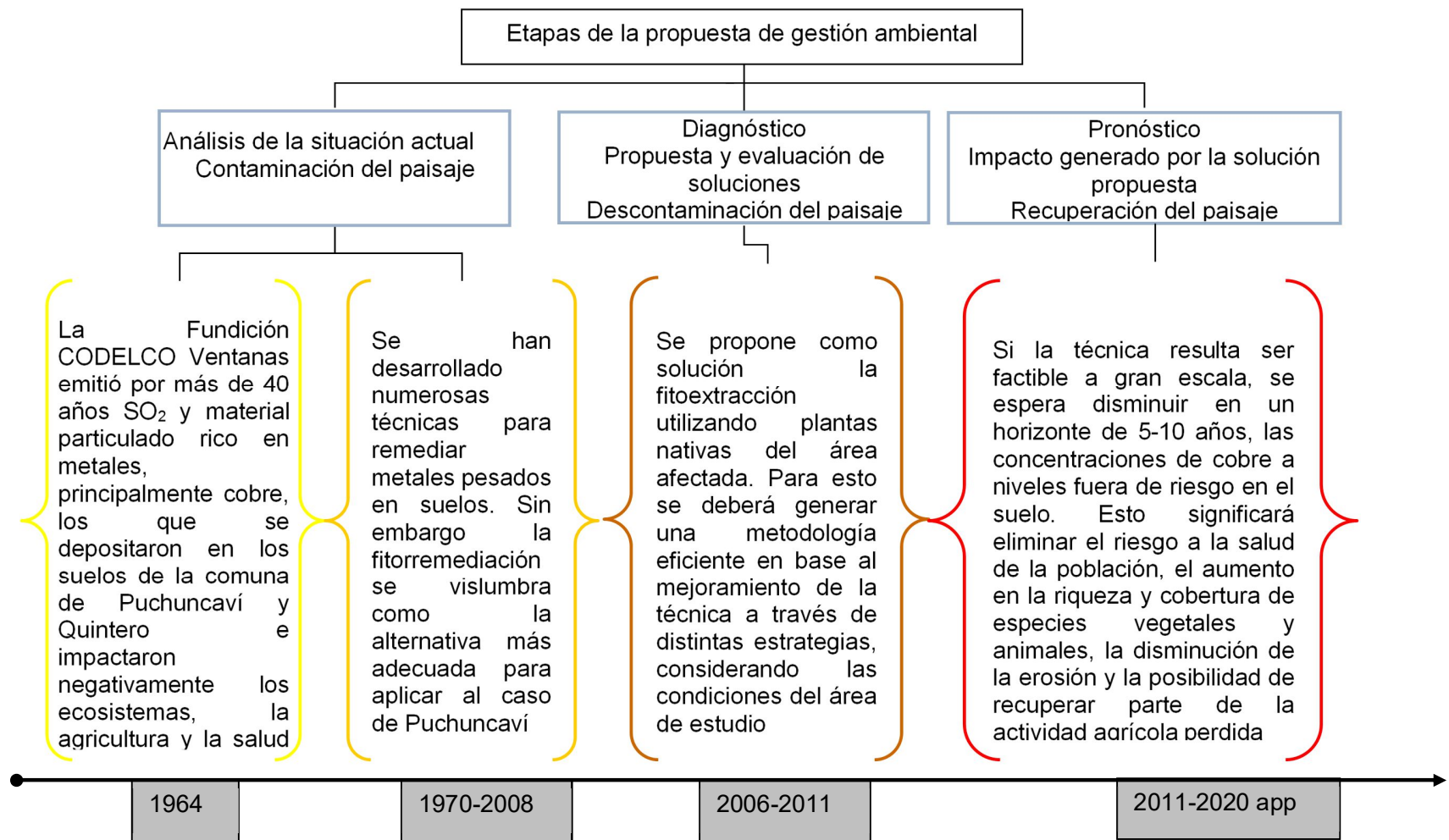


Figura 53. Flujograma de desarrollo de los objetivos específicos de la investigación.

Fuente: elaboración propia

El objetivo general y los objetivos específicos planteados anteriormente se enmarcan en la resolución de un ámbito específico del problema global existente en el área de estudio: la contaminación de los suelos. Sin embargo, no se debe perder de vista que la búsqueda de una solución a este problema particular debe formar parte de una propuesta de gestión cuyo objetivo final trasciende la matriz estudiada ya que busca contribuir a la reparación de los ecosistemas en su globalidad, lo que también incluye mejorar la calidad de vida de las personas.

En la Figura 54 se presenta el esquema general de gestión ambiental en el cual se enmarcó la investigación propuesta y la correspondencia con las etapas específicas de la investigación que abordó la tesis. La primera etapa corresponde al análisis de la situación existente, es decir, la recopilación de antecedentes referentes a la situación de la contaminación por cobre en el área de estudio y a las alternativas existentes para su remediación (corresponde al trabajo previo a la tesis). De esta etapa se desprende el diagnóstico, que corresponde a la propuesta de la fitoextracción como alternativa de solución al problema planteado, siempre y cuando fuese posible realizar un mejoramiento de la técnica, que la hiciera eficiente para su aplicación en el área. Para evaluar si esto es factible se realizó una investigación que correspondió a la presente tesis. Si, como resultado de la investigación, se lograba obtener una metodología eficiente para la fitoextracción de cobre, entonces se iniciaría la puesta en marcha, por parte de la empresa involucrada, de un proceso de fitoextracción a nivel comunal (o en los sectores más afectados). Luego de un determinado período de tiempo, (que debe ser <10 años) se podrían ver los principales impactos positivos que este proceso de descontaminación traería a los ecosistemas y a la población de los sectores restaurados. Sin embargo, se estima que el ecosistema afectado tardaría muchos años más en lograr un nuevo estado de equilibrio.



**Figura 54. Esquema de la propuesta de gestión ambiental**

Fuente: elaboración propia

**CAPITULO V**  
**MATERIALES Y MÉTODOS**



En este capítulo se describe el área de estudio, las especies estudiadas, el montaje de cada uno de los 6 ensayos llevados a cabo, la metodología de medición de variables, los métodos analíticos químicos y estadísticos y finalmente los criterios de afirmación o rechazo de la hipótesis de investigación.

### **5.1. Áreas de muestreo y ubicación de ensayos**

En la región de Valparaíso, en el límite de las comunas de Puchuncaví y Quintero, se emplaza la Fundición CODELCO Ventanas, como parte de un clúster industrial donde se emplazan principalmente termoeléctricas, terminales de combustibles e industrias químicas. El área aledaña a esta fundición ha sido históricamente afectada por las emanaciones de su chimenea, principal foco contaminante dentro del clúster industrial. La fundición se emplaza a menos de dos kilómetros de centros poblados como Ventanas, Los Maitenes, Campiche y la Greda, cuya población recibió por años las emisiones de material particulado y anhídrido sulfuroso de la chimenea. Aunque actualmente las emisiones cumplen con la normativa vigente, el daño histórico ha quedado patente en los suelos de la zona. Actualmente dichos suelos presentan altas concentraciones de cobre y, en menor proporción, otros metales y son marcadamente ácidos, lo que a su vez aumenta la disponibilidad de los metales en el suelo. Las comunas y específicamente el área afectada por la contaminación, se describieron en detalle en el Capítulo III.

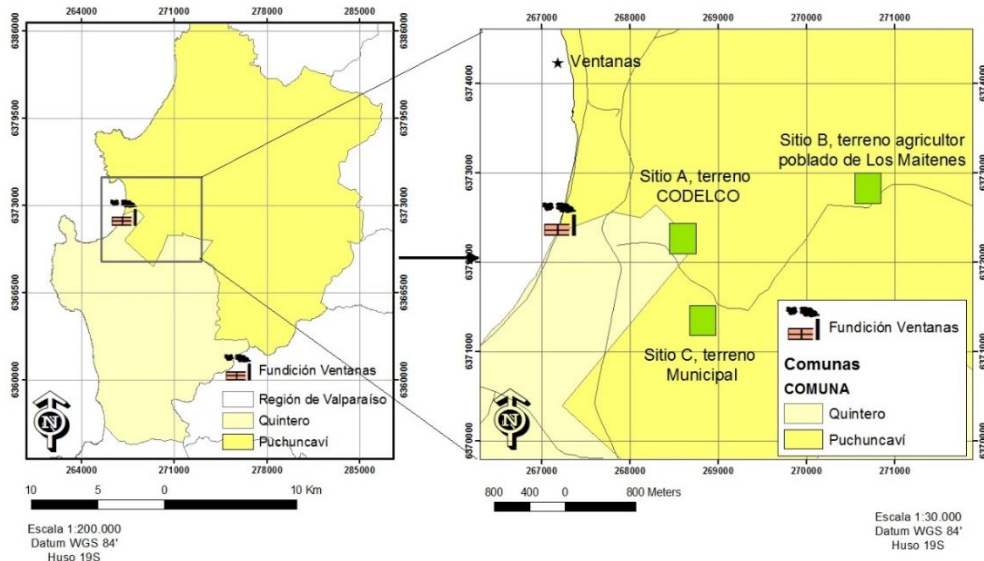
Los ensayos realizados en condiciones *in-situ* se ubicaron en la localidad de Los Maitenes, al sureste de la Fundición CODELO Ventanas, comuna de Puchuncaví. Este sector ha sido uno de los más impactados por la fundición a lo largo de su historia, tal como se describe en el Capítulo III. Es por esto que se seleccionó como área para localizar los ensayos y tomar las muestras relacionadas a esta investigación (Figura 55). Los sitios seleccionados para los ensayos fueron los siguientes:

A. Un terreno perteneciente a CODELCO Ventanas, ubicado en el camino hacia el poblado de Los Maitenes, distante 1,5 km al sur-este de la fundición, con una superficie aproximada de 60 ha (datos entregados por CODELCO). Este terreno se encontraba sin uso al momento de realizar los ensayos. En este sitio se realizaron ensayos relacionados al objetivo 4d y 5.

B. Un pequeño terreno perteneciente a un agricultor de la zona (Sr. Miguel Bernaldes), dentro del poblado de Los Maitenes, a 3 km al este de la fundición, de una superficie aproximada de 0,5 ha. Este sitio se encontraba en desuso hace algunos años (probablemente se cultivaron hortalizas anteriormente), aunque era frecuente el tránsito de ganado del propietario. En este sitio se desarrollaron ensayos relacionados al objetivo 3 y 4a.

C. Una tercera área, que fue utilizada para muestreos de plantas y para muestreo de suelos para un ensayo *ex situ*. Esta área, de aproximadamente 1 Ha, se ubica a 1,8 km al sur-este de la fundición, y corresponde a terrenos municipales sin uso actual, con vegetación natural de matorral. En esta área se realizaron

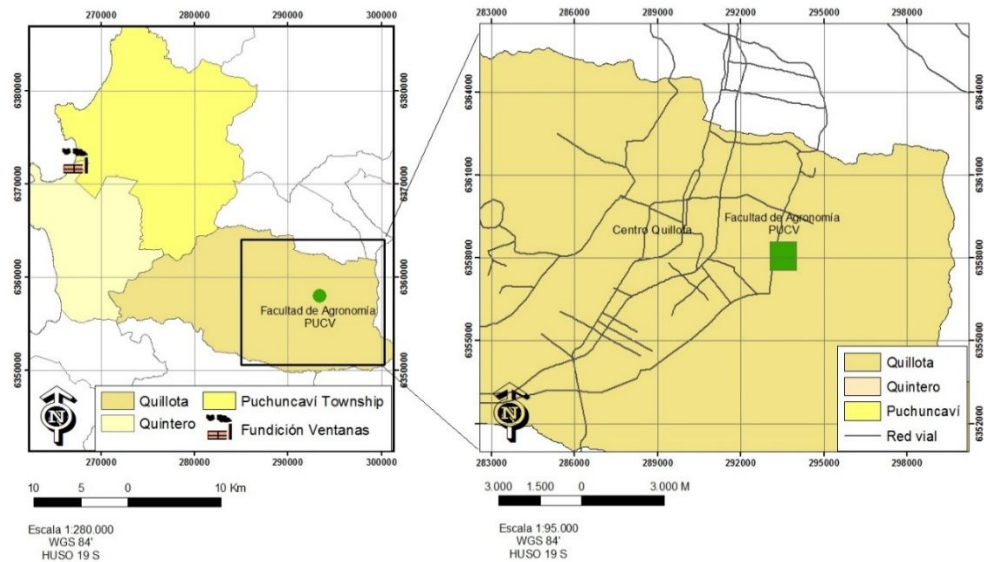
muestras relacionados al objetivo 4b y 4c.



**Figura 55. Ubicación de las áreas de muestreo y experimentación**

Fuente: elaboración propia

Se realizó además un ensayo en condiciones *ex situ* en dependencias de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, ubicada en la comuna de Quillota, región de Valparaíso (Figura 56), zona lejos de la influencia de las emisiones de la Fundación. Este ensayo se relaciona al objetivo 4.



**Figura 56. Ubicación del ensayo *ex situ* en la comuna de Quillota, región de Valparaíso**

Fuente: elaboración propia

## 5.2. Determinación de los valores objetivo en base a la estimación del valor background de Cu disponible

Esta actividad tuvo por objetivo determinar el nivel objetivo o target al cual se desea llegar con la remediación. El establecer el valor objetivo en base al background asegura el no tener riesgos a la salud o medio ambiente y restaurar gradualmente la funcionalidad de los ecosistemas.

Considerando que son las fracciones biodisponibles las que interactúan y pueden causar riesgo a la salud humana o a la biota y que además las plantas extractoras solo pueden extraer la fracción biodisponible de los metales del suelo, se decidió definir el éxito o eficiencia de la fitoextracción en base a esta fracción, en vez de utilizar la concentración total que suele utilizarse, pero que representa un escenario poco realista. Este paradigma se está difundiendo cada vez más a nivel internacional, siendo incorporado gradualmente a las normativas de calidad de suelo (ver Anexo I, sección 3.2).

Siguiendo la metodología recomendada por la EPA se escogieron áreas que no hayan recibido contaminación, pero deben tener las mismas características básicas que el sitio en cuestión. Para asegurar esto se usó la misma metodología usada por el Ministerio de Medio Ambiente (PGS Chile, 2015). Se seleccionaron áreas al Norte y al Sur de las comunas en estudio (Concón, norte de Nogales, Viña del Mar, Zapallar, Limache) tomándose muestras en áreas con series de suelo presentes en el área de estudio: Lo Vásquez, Tabolango, Loncura y Catapilco). Se tomaron en total 38 muestras de suelo.

El muestreo contempló solo el suelo superficial (15 cm). Se determinó el Cu soluble y el Cu intercambiable en cada una de las muestras (en base a los métodos definidos en 5.3), calculándose luego el Cu disponible como la suma de los anteriores (ver Anexo I, sección 1.1).

### 5.3. Caracterización inicial de los suelos

En cada una de las áreas de muestreo y ensayo, se tomaron muestras de suelos:

- En el sitio A, se tomaron muestras en cada una de los cuadrantes que se delimitaron para la realización del ensayo final (ver Figura 70), con un total 16 muestras.
- En el sitio B se tomaron muestras en cada uno de los cuadrantes de la parcela experimental en que se desarrolló el ensayo de evaluación de enmiendas (ver Figura 60), en total 50 muestras.
- En el sitio C, en la que se muestrearon especies, se tomaron muestras de rizósfera de cada una de las plantas que se muestrearon. Además en este sitio, se muestreó suelo para la realización de los ensayos *ex situ* con quelantes (ver Figura 64), en total 26 muestras.

El muestreo consistió en una muestra compuesta (en base a tres submuestras) a una profundidad de 0-15 cm, que se almacenó en bolsas de papel. Se muestreó a esta profundidad dado que estudios anteriores realizados por el equipo investigador en la zona evidenciaron que la contaminación se concentraba en los primeros 15 centímetros del suelo para luego a mayor profundidad diluirse a valores considerados normales (Ulriksen et al., 2012). En el caso de la parcela del área A, se tomaron muestras a 3 profundidades (0-5, 5-15 y 15-30 cm) debido a que en esta área se ensayó el uso de quelantes, que producen la lixiviación de elementos en el perfil, por lo que se requería conocer las características de las distintas capas de suelo. Igualmente, en sitio C, el muestreo de suelos para el ensayo *ex situ* con quelantes también se realizó por profundidades (0-15, 15-30, 30-45, 45-90) para simular las distintas capas de suelo, en las condiciones controladas.

Las muestras de suelo fueron secadas a temperatura ambiente (a 40°



pueden producirse algunas volatilizaciones de semi-volátiles) por 48 horas y tamizadas a 2 mm. Posteriormente se realizaron algunos o todos los siguientes análisis (se especifica en la sección correspondiente a cada ensayo):

- Cobre quasi total: se determinó luego de la digestión del suelo, usando ácidos nítrico y clorhídrico concentrados siguiendo el método de Verlinden (1982). Luego, para la determinación de Cu quasi total, se utilizó espectrometría de absorción atómica (AAS; GBC, modelo 902, Dandenong, Victoria, Australia).
- pH: se utilizó una solución de  $\text{KNO}_3$  0,1 M como extractante (razón suelo: solución de 1:2,5), siguiendo la metodología "Extracto de saturación y determinación potenciométrica" de Sadzawka (1990).
- Cobre intercambiable: se utilizó extracción en  $\text{KNO}_3$  0.1 N y determinación por Espectrometría de Absorción Atómica y aspiración directa, según el método de (Stuckey et al., 2008).
- Cobre soluble: se formó una pasta saturada, se filtró y se determinó el Cu por digestión acida mediante el método estándar para aguas (APHA, 2012).
- $\text{Cu}^{+2}$  libre: se utilizó una solución de  $\text{KNO}_3$  0,1 M como extractante (razón suelo: solución de 1:2,5). Luego, se determinó  $\text{pCu}^{+2}$  ( $\text{pCu}^{+2} = -\log[\text{Cu}^{+2}]$ , donde  $[\text{Cu}^{+2}]$  es la actividad del ion libre  $\text{Cu}^{+2}$ ), mediante un electrodo selectivo del ion  $\text{Cu}^{+2}$ . El electrodo fue calibrado usando soluciones tampón de ácido iminodiacético (Rachou et al., 2007).
- Materia orgánica: se analizó mediante extracción con solución de bicarbonato de sodio 0,5 mol/L a pH 8,5 y determinación colorimétrica del azul de molibdeno, según el método de Sadzawka et al. (2006).
- Fósforo: se determinó mediante extracción con solución de bicarbonato de sodio 0,5 mol/L a pH 8,5 y determinación colorimétrica del azul de molibdeno según el método de Sadzawka et al. (2006).
- Nitrógeno: se determinó mediante extracción con cloruro de potasio 2 mol/L, destilación de  $\text{NH}_3$  y determinación por titulación siguiendo el método de Sadzawka et al. (2006).
- Potasio asimilable: se determinó mediante extracción con solución de acetato de amonio 1 mol/L a pH 7,0 y determinación por espectrofotometría de llama siguiendo el método descrito por Sadzawka et al. (2006).
- Textura: la textura fue determinada por el método simplificado del hidrómetro (Sheldrich & Wang, 1993).
- Densidad aparente: se determinó mediante el método del terrón descrito por (Blake & Hartge, 1986).

Se prefirió la utilización de estos métodos ya que son aquellos que forman parte de los análisis acreditados en el laboratorio de Suelos y Análisis Foliar de la PUCV, donde se realizaron los ensayos.

Para el aseguramiento y control de calidad de los resultados de Cu, se analizaron muestras de referencia:

- PACS-2, sedimento marino, del National Research Council of Canada
- GBW 07312 (sedimento de río) del *International Atomic Energy Agency*.
- IAEA-SL-1 (sedimento lacustre) del *International Atomic Energy Agency*.

Se consideró aceptable que la diferencia entre el valor obtenido y el certificado fuese menor al 10%.

#### 5.4. Especies metalófitas a utilizar

A lo largo de toda la investigación se trabajará con las especies *Oenothera picensis*, *Baccharis linearis* y *Argemone subfusiformis*, identificadas previamente, por la autora, como plantas nativas potencialmente acumuladoras de Cu, presentes en el área de estudio. Las especies se seleccionaron por sus altas concentraciones de Cu en la biomasa aérea, en relación a otras especies que se encontraron en el lugar, así como su abundante biomasa (González et al., 2008).

A continuación se describen todas y cada una de estas especies.

##### 5.4.1. *Oenothera picensis* Phil

- Nombre común: Flor de la oración (Figura 57)



**Figura 57. *Oenothera picensis* Phil.**

Fotografía: elaboración propia

- Taxonomía:
  - División: Espermatofita
  - Subdivisión: Magnoliofita
  - Clase: Magnoliopsida
  - Orden: Myrtales
  - Familia: Onagraceae
  - Género: *Oenothera*
- Origen: Nativa de Sudamérica
- Hábito: Hierba subperenne en área de estudio, aunque algunos autores la describen como anual en otros países
- Morfología: *O. picensis* es una especie anual de hojas lanceoladas de 2 a 10 cm de longitud x 0,5 - 1,5 cm de ancho y bordes dentados. Las flores son grandes, de color amarillo, con hipanto de 10 cm de longitud y pétalos de 2,5 a 3,5 cm de longitud. La flor expone sus órganos reproductivos sólo durante la noche, permaneciendo cerrada durante el día. Es autopolinizable aunque presenta, según el lugar donde crece, variados porcentajes de polinización cruzada. Crece hasta 1,5 m de altura.
- Propagación: Por semillas
- Concentración de cobre encontradas en el área de estudio: 614 mg/kg
- Otras características: Resistente a sequía
- Criterios de selección: esta especie fue aquella que presentó la mayor

concentración de cobre en tejidos aéreos en la prospección realizada en el área de estudio año 2008, además es altamente resistente a la sequía; año a año su biomasa aérea se seca quedando latentes las raíces, a partir de las cuales la planta rebrota con las primeras lluvias del año siguiente.

(González, et al., 2008; Matthei, 1995)

#### 5.4.2. *Argemone Subfusiformis* Ownbey

- Nombre común: Cardo santo (Figura 58)



**Figura 58. *Argemone subfusiformis* Ownbey**

Fotografía: elaboración propia

- Taxonomía
  - División: Espermatofita
  - Subdivisión: Espermatofita
  - Clase: Magnoliopsida
  - Orden: Papaverales
  - Familia: Papaveraceae
  - Género: *Argemone*
- Origen: Nativa
- Hábito: Hierba anual o perenne.
- Morfología: Tallos de 50-100 cm de altura, erectos o semirrastreros. Ramosa en el ápice o muy ramificada cuando se presenta decumbente, cubierta de aquijones y espinas perpendiculares o recostados en los tallos. Hojas glaucas o verdes muy brillantes, con los nervios muy marcados, blancos, lobuladas, los senos 1/2 a 3/4 de la distancia al nervio medio, márgenes dentados en forma regular y principalmente en los lóbulos, ápices aculeados, semiabrazadoras; el haz con escasos agujones o espinas, el envés, espinoso. Yemas florales subesférico-oblongas o cilíndricas, de 14-23 x 6-12-(18) mm. Flores de 2-4-(8) cm de diámetro, pedicelos 1,5-5 mm, pétalos oroleucos o amarillos, cuneiformes o semiorbiculares; estambres, filamentos y anteras amarillos (raramente filamentos rojo-purpúreos), estigma purpúreo de 1,5-2,0 x 3,0-4,3 mm de ancho. Cápsulas de (3)-4-5 (6) carpelos, subelipsoides o fusiformes, 2,9-

- 4,9 cm, incluido el estigma, x 1,1-1,9 cm, excluido los aguijones, estilo 1-2 mm; aguijones desigualmente distribuidos, erectos y torcidos los superiores, perpendiculares o torcidos los centrales, recostados los inferiores, de base cónica, (6) 9-18 (20), los más largos de 6-8 mm. Semillas 1,8-2,0 mm.
- Propagación: Por semillas
  - Concentración de cobre encontrada en el área de estudio: 391±13 ppm
  - Otras características: Resistente a sequia (soporta <100 mm/año), venenosa. Los extractos etanólicos de sus hojas sirven como agente biocida para las larvas y pupas de *Aedes aegypti* (transmisor del dengue y fiebre amarilla).
  - Criterios de selección: la especie se seleccionó por ser una herbácea de gran producción de biomasa y crecimiento rápido, además de ser una de las tres especies de mayor concentración de cobre en su biomasa aérea, en relación a las otras especies encontradas en el área de estudio.  
(Chileflora, 2008; González, et al., 2008; Peña, 2002; Vidal et al., 2009)

#### 5.4.3. *Baccharis linearis* (Ruiz et Pav) Pers

- Nombre común: Romerillo (Figura 59)



**Figura 59. *Baccharis linearis* (Ruiz et Pav) Pers**

Fotografía: elaboración propia

- Taxonomía
  - División: Espermatofita
  - Subdivisión: Magnoliofita
  - Clase: Magnoliopsida
  - Orden: Asterales
  - Familia: Asteraceae
  - Género: Baccharis
- Origen: Nativa
- Morfología: Arbusto siempreverde, muy ramoso, ramas verticales densamente hojosas, a menudo infectadas por un insecto que le produce agallas blancas, hinchadas y pegajosas. Hojas sésiles, lineares, enteras. Flores en capítulos, reunidos en corimbos terminales. Flores masculinas y femeninas en plantas diferentes.
- Propagación: Por estacas y semillas

- Concentración de cobre reportada en el área de estudio:  $314 \pm 51$  mg/kg
- Otras características: la especie fue identificada como colonizadora en las cercanías de tranques de relaves en el norte de Chile. Posteriormente fue calificada como tolerante al Cu en el proyecto de “Fitoestabilización de Depósitos de Relave” (León-Lobos et al., 2011)
- Criterio de selección: la especie se seleccionó para el estudio por ser el arbusto con mayor concentración de cobre foliar, entre las otras especies arbustivas encontradas en el área de estudio (Chileflora, 2008b; González et al., 2008)

## 5.5. Descripción de la metodología

A continuación se describe la metodología a desarrollar, para el cumplimiento de los objetivos específicos descritos en el Capítulo IV.

### 5.5.1. Recopilación y sistematización de información secundaria sobre técnicas de remediación de suelos

- Objetivo asociado:

1.-Conocer todas las posibles estrategias de biorremediación a aplicar en la gestión de una amplia área contaminada por cobre

- Duración: 1 año para el desarrollo del anteproyecto de tesis (año 2008-2009)

Se recopiló la información actualizada sobre las técnicas de biorremediación disponibles a nivel internacional y el nivel de avance de su aplicación en Chile y el mundo. Para esto, se recurrió a artículos científicos, libros, tesis, informes de proyectos y sitios web de organismos estatales nacionales e internacionales. La información se sistematizó, evaluando las ventajas y desventajas de cada técnica de biorremediación existente para metales en suelos. En base a esto se fundamentó la selección de la fitoextracción como técnica a utilizar en esta investigación y recopiló información relevante para el desarrollo de los objetivos de mejoramiento de la técnica.

Esta información se presenta en el capítulo I de esta tesis.

### 5.5.2. Ensayo inicial: Determinación de número de ciclos necesarios para remediar un suelo, sin técnicas de mejoramiento

- Objetivos asociados:

2.- Determinar para *Oenothera picensis*, *Argemone subfusiformis* y *Baccharis linearis* el número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una unidad de superficie de suelo contaminado en Puchuncaví contando únicamente la fitorremediación como técnica de aplicación.

3.- Conocer el comportamiento del cobre y sus compuestos en el área de estudio

- Duración del ensayo

El ensayo tuvo una duración de dos años (abril 2008-abril 2010).

- Localización y diseño experimental

Cada una de las especies utilizadas fueron cultivadas durante 2 años (abril 2008-abril 2010) en condiciones de campo, en una parcela experimental ubicada en la localidad de Los Maitenes (Sitio A, Figura 55), sin ningún tratamiento.

Para cada especie se establecieron 4 repeticiones, correspondientes a cuadrantes de 1x4 m<sup>2</sup> dispuestos al azar (para abordar la variabilidad del suelo). Para *Baccharis linearis* se establecieron dos repeticiones (dos cuadrantes), debido al mayor espacio que esta especie requiere. En cada cuadrante se trasplantaron 36 individuos de *Oenothera picensis* o *Argemone subfusiformis*, y 3 individuos en cada cuadrante en el caso de *Baccharis linearis*.

La misma parcela fue utilizada simultáneamente para el desarrollo de otro ensayo (ensayo 1, sección 5.5.31), en el cual las subparcelas sin tratamiento, se consideraron como controles. Las especies fueron cultivadas según las especificaciones de la Tabla 9.

**Tabla 9. Especificaciones para el cultivo y cosecha de especies *in-situ***

Especificaciones de cultivo	Especie		
	Argemone subfusiformis	Oenothera picensis	Baccharis linearis
Forma de propagación	Semilla	semilla	estaca
Marco de plantación (cm <sup>2</sup> )	30x30	30x30	70x70
Manejo	Solo riego hasta establecimiento		
Forma de cosecha	Corte biomasa aérea	Corte biomasa aérea	Corte biomasa aérea

Tabla: elaboración propia

- Variables de medición directa

- a) Sobrevivencia de cada especie
- b) Biomasa y concentración de cobre en las biomásas aérea y radical

- Variables de medición indirecta

- a) Extracción de Cu por individuo y por unidad de superficie
- b) N° de ciclos de cultivo necesarios para descontaminar un área

- Determinación de sobrevivencia, biomasa y concentración de cobre en tejidos

Al final de cada ciclo de cultivo, se determinó el número de individuos sobrevivientes de cada especie.

Luego, se cosechó biomasa aérea de 3 individuos en cada uno de los cuadrantes de *O. picensis*. En el caso de *B. linearis*, los individuos se cosecharon en su totalidad solo al fin de dos años de cultivo, en espera de que los individuos se desarrollaran hasta un estado cercano al adulto.

Para *O. picensis*, la cosecha de la biomasa aérea se hizo a un par de centímetros del suelo ya que la especie se renueva fácilmente a partir de las estructuras a ras de suelo (hemicriptófita). Para *B. linearis*, al fin del segundo año la planta se cortó a ras de suelo.

En laboratorio, las plantas, separadas por partes (tallos, hojas, frutos, flores), fueron lavadas siguiendo la siguiente secuencia: agua potable, HCl 0,1 M, agua desionizada, EDTA (0,05 M) y agua desionizada (dos enjuagues) (Ginocchio et al., 2002). Luego de medir la biomasa de cada una de las estructuras en una balanza analítica, las muestras fueron secadas por 48 horas a 60°C en estufa. Posteriormente fueron trituradas en molino para su análisis elemental. La concentración de cobre en la biomasa aérea fue determinada, luego de la digestión ácida de la muestra, mediante espectrofotometría de absorción atómica siguiendo el método de Sadzawka et al. (2007).

Para comprobar la exactitud y precisión del método, se llevaron a cabo análisis de dos muestras de referencia: 1570a (espinaca) y 1573a (tomate) del National Institute of Standards and Technology. La diferencia entre el valor certificado y el valor obtenido fue menor al 10%.

- Determinación de extracción de cobre, cobre extraído por unidad de superficie, n° de ciclos necesarios para descontaminar un suelo

Para cada individuo cosechado se calculó la extracción de cobre en la biomasa aérea según la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} & \text{Extracción de Cu en individuo} \left[ \frac{mg}{\text{individuo}} \right] \\ & = \sum \text{biomasa de cada estructura aérea [kg]} * \text{conc de Cu en cada estructura aérea} \left[ \frac{mg}{kg} \right] \end{aligned}$$

De este modo se obtuvieron las extracciones para todos los individuos muestreados, pudiendo establecerse un rango y un promedio de extracción para cada especie. Para *B. linearis* que se cosechó luego de dos años, la extracción se dividió en dos para obtener la extracción de Cu en cada ciclo.

Luego, considerando el marco de plantación de cada especie, la sobrevivencia medida de cada especie, y los valores promedio de extracción de cobre obtenidos por individuo, se calculó para cada especie, la extracción proyectada a un metro cuadrado, según la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} & \text{Extracción proyectada por superficie} \left[ \frac{mg}{m^2} \right] \\ & = \text{extracción por individuo} \left[ \frac{mg}{\text{individuo}} \right] \\ & \quad * \text{sobrevivencia (propoción)} * \text{marco plantación}^2 \left[ \frac{\text{individuos}}{m^2} \right] \end{aligned}$$

Luego, considerando la profundidad de la contaminación (aproximadamente 15 cm, Neaman, et al., 2009), la densidad del suelo, la concentración de cobre disponible en los suelos de las tres áreas de muestreo<sup>32</sup> y la concentración de Cu disponible definida como objetivo (“target value”, ver 5.2), se calculó un rango de cantidades de cobre que debe ser removido de la capa de suelo, por unidad de superficie<sup>33</sup>.

<sup>32</sup> Se consideraron como escenarios el valor máximo, mínimo y la mediana obtenida de los datos de las tres áreas de muestreo y ensayo, min: 3 mg/kg, máx: 163 mg/kg; mediana: 48 mg/kg. Ver 6.3.

<sup>33</sup> Luego se puede obtener el cobre a remover por unidad de volumen (mg/m<sup>3</sup>) dividiendo el valor obtenido en m<sup>2</sup> por 0,15 (profundidad estimada de remediación). Se prefirió entregar el valor en términos de superficie, para hacerlo mas aplicable a la realidad ya que la profundidad de remediación será siempre similar (dado que la

$$\begin{aligned}
 & \text{masa de Cu que se debe remover [mg/m}^2\text{]} \\
 & = \left( \text{Profundidad de la contaminación [m]} * \text{dens. del suelo} \left[ \frac{\text{kg}}{\text{m}^3} \right] \right) \\
 & * \left( \text{conc. de Cu disponible actual en suelo} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right] \right. \\
 & \left. - \text{conc. de Cu disponible deseada en el suelo} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right] \right)
 \end{aligned}$$

Finalmente, para cada especie, se calculó el número de ciclos necesarios para alcanzar los valores deseados de cobre en el suelo, dependiendo de los valores iniciales.

$$\begin{aligned}
 & N^\circ \text{ de ciclos necesarios para descontaminar una superficie de suelo conaminado por Cu} \\
 & = \frac{\text{masa de Cu a remover por} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{m}^2} \right]}{\text{extracción proyectada por superficie} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{m}^2} \right]}
 \end{aligned}$$

Es relevante mencionar que para todos estos cálculos la extracción proyectada se consideró estable, es decir, que la planta extraerá la misma cantidad de Cu todos los años. Esto en un escenario real es improbable. Lo más probable es que la cantidad de Cu extraído disminuya con el tiempo debido a que los primeros años disminuirá el Cu disponible. Algunos autores indican que la cantidad absorbida de Cu tiene una relación lineal con la cantidad disponible, a lo largo de los años. Otros indican que tiene una relación logarítmica. Esto varía caso a caso ya que los suelos llegan a un nuevo equilibrio después de cada ciclo de extracción y no es posible de predecir, por lo que se suele usar una tasa constante de extracción (Van Nevel et al., 2007).

### 5.5.3. Ensayos para la selección de estrategias de mejoramiento de la extracción de cobre

- Objetivos asociados:

3.- Conocer el comportamiento del cobre y sus fracciones en el área de estudio

4.- Seleccionar estrategias de mejoramiento que aumenten significativamente la extracción de cobre en *Oenothera picensis*, *Argemone subfusiformis* y *Baccharis linearis*.

Para la selección de estrategias, los objetivos son:

- Identificar enmiendas agrícolas que permitan aumentar la extracción de Cu en las especies estudiadas.
- Determinar el estado fenológico ideal para la cosecha de individuos (mayor concentración de cobre en parte aérea).
- Determinar el efecto de la adición de un quelante biodegradable al suelo, sobre la solubilidad del Cu y su extracción por parte de *O. picensis*.
- Obtener mediante selección fenotípica, semilla de individuos fenotípicamente homogéneos con una media de extracción de cobre mayor que la población original, para cada especie.
- Seleccionar para cada especie, las estrategias de mejoramiento más eficientes

---

contaminación no supera los 15 cm).



La metodología relacionada a la evaluación de cada una de estas estrategias se detalla a continuación.

5.5.3.1. Ensayo 1: Evaluación del efecto de enmiendas agronómicas sobre la extracción de cobre por *Oenothera picensis*, *Argemone subfusiformis* y *Baccharis linearis*

- Objetivo asociado:

4-a).- Identificar enmiendas agrícolas que permitan aumentar la extracción de Cu en las especies estudiadas.

- Duración del ensayo

El ensayo tuvo una duración de dos años (abril 2008-abril 2010).

- Ubicación y diseño experimental

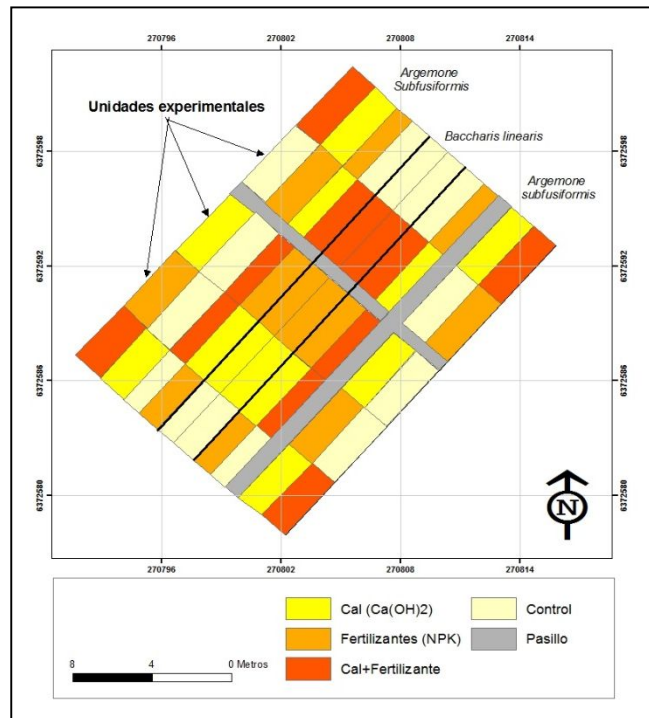
Esta actividad se llevó a cabo *in situ* en una parcela experimental en la localidad de Los Maitenes, comuna de Puchuncaví (Sitio B, Figura 55). Esta parcela se utilizó simultáneamente en el ensayo inicial (cap. 5.5.2).

La parcela experimental tenía una superficie de 20\*14 m<sup>2</sup> (Figura 60) y se dividió en tres secciones, una para *Oenothera picensis*, una para *Baccharis linearis* y una para *Argemone subfusiformis*. Para *O. picensis* y *A. subfusiformis* se utilizó un diseño en bloques completamente al azar, con cuatro tratamientos y 5 repeticiones (bloques) por tratamiento, para cada especie. Los tratamientos fueron: cal, fertilizantes (NPK), cal + fertilizantes y control (sin enmiendas). En el caso de *Baccharis linearis* se utilizaron solo 2 repeticiones por tratamiento, debido a dificultades para su propagación y el mayor espacio que la especie requiere para su desarrollo.

Cada unidad experimental correspondió a un cuadrante de 4\*1 m<sup>2</sup>. Dentro de cada cuadrante, se trasplantaron aproximadamente 36 individuos de *A. subfusiformis* o *O. picensis*, según correspondiese (unidades de observación). Para *Baccharis linearis*, dentro de cada cuadrante se trasplantaron 3 individuos.



*Oenothera  
picensis*



**Figura 60. Ubicación de la parcela experimental y esquema de la distribución de las especies, y los bloques con los tratamientos.**

Fuente: elaboración propia

- Caracterización inicial de suelos

Los suelos de cada uno de los cuadrantes fueron caracterizados en sus concentraciones iniciales de Cu quasitotal (pseudo total), Cu intercambiable,  $pCu^{+2}$ , pH, NPK disponibles y materia orgánica, siguiendo los métodos descritos en la sección 5.2.

- Aplicación de tratamientos

Los tratamientos, se aplicaron según las siguientes especificaciones:

- **Cal:** Luego de conocer el pH inicial, se aplicaron dosis de 500 g/m<sup>2</sup> de cal hidratada Ca(OH)<sub>2</sub>, hasta llegar a un pH neutro (6,5-7,5).
- **Fertilizantes:** Se aplicó una mezcla de nitrato de calcio, magnesio y potasio y fosfato, en las siguientes dosis:

• 22 gr. de nitrato de potasio/m <sup>2</sup>
• 30 gr. de nitrato de calcio/m <sup>2</sup>
• 27 gr. de nitrato de magnesio/m <sup>2</sup>
• 10 gr. de fosfato diamónico/m <sup>2</sup>

Las dosis se aplicaron una o varias veces, hasta lograr llegar a valores considerados normales en un suelo fértil (40 ppm de N disponible, 15 ppm de fósforo disponible y 160 ppm de potasio disponible) (Junta de Extremadura, 1992). Se esperó aproximadamente un mes luego de la primera aplicación para tomar nuevas muestras de suelo y evaluar si era necesaria una nueva aplicación.

- **Cal + fertilizantes:** Se aplicó una mezcla de los tratamientos anteriores, buscando alcanzar los valores especificados para ambos.

- **Control:** No se aplicó ninguna enmienda al suelo.

Cabe mencionar que la adición de nitrógeno y cal al suelo ya había sido estudiada para su efecto sobre *O. picensis*, encontrándose que el nitrógeno aumentaba la concentración de Cu en la biomasa aérea mientras el encalado mejoraba la sobrevivencia de la especie respecto al control sin enmiendas (no se pudo evaluar su efecto sobre la biomasa dado que las plantas del control no sobrevivieron) (Muena et al., 2010).

Las enmiendas se incorporaron al suelo mediante labores manuales (incorporación con pala) y aplicándose riego semanal durante dos semanas luego de cada aplicación, para asegurar la incorporación de las enmiendas al suelo (Figura 60).

Luego de un mes después de finalizar la aplicación de enmiendas, se tomaron nuevas muestras de suelos para comparar las características iniciales con las características después de la aplicación e incorporación en el suelo de las enmiendas.



**Figura 61. Aplicación de cal en parcela experimental.**

Fuente: elaboración propia

- Trasplante y cultivo de especies

Luego de incorporar las enmiendas, se realizó el trasplante de los individuos de cada especie. Las especies *Oenothera picensis* y *Argemone subfusiformis* fueron propagadas por semillas, bajo sombreadero, mientras *Baccharis linearis* fue propagada por estacas, en cama y posteriormente bajo sombreadero. Las plantas de *O. picensis* y *A. subfusiformis* se plantaron cada 30 cm. Los arbustos de *B. linearis*, se plantaron a una distancia de 70 cm uno el otro.

El primer año de cultivo se aplicó riego hasta el inicio de la temporada de lluvias, para lograr el establecimiento de las plántulas.

- Variables de medición directa

- a) Supervivencia: se determinó la supervivencia de cada especie, en cada unidad experimental (cuadrante), al final del primer y segundo año de cultivo.
  - b) Biomasa y concentración de cobre foliar: al fin del segundo año de cultivo<sup>34</sup> se determinaron la biomasa y concentración de cobre en la biomasa aérea y radical de cada especie.
- Variables de medición indirecta
    - a) Extracción de cobre por individuo
    - b) Extracción de cobre por superficie
  - Determinación de supervivencia, biomasa y concentración de cobre en especies

Al fin de cada ciclo de cultivo se realizó el conteo de individuos supervivientes en cada cuadrante, calculándose el porcentaje de supervivencia.

Se realizaron muestreos, al fin del primer y segundo ciclo de crecimiento de cada especie, para evaluar la evolución de la extracción por individuo año a año. Se sabe, por ensayos previos, que las plantas herbáceas perennes no presentan su máxima acumulación durante su primer año de vida sino que acumulan preferentemente en las raíces, para en años posteriores translocarlo a sus estructuras aéreas. Al fin del primer ciclo se cosechó solo biomasa aérea, para permitir la renovación de las plantas durante el siguiente ciclo. Al final del segundo año de cultivo se cosecharon individuos completos.

En cada unidad experimental (cuadrante) cultivada con *Oenothera picensis* se cosecharon 3 individuos. En consecuencia, dado que cada tratamiento se componía de 4 bloques, se cosecharon en total 12 individuos, en cada muestreo.

Para *A. subfusiformis* no se pudo realizar muestreo ya que la especie no sobrevivió al primer ciclo de cultivo (se detalla en resultados).

Para *B. linearis* al fin del primer ciclo se hizo una poda y al fin del segundo ciclo se cosecho la planta completa.

Luego de cada cosecha, los tejidos vegetales fueron separados en las diferentes estructuras (raíces, hojas, tallos) y lavados siguiendo la secuencia: agua potable, HCl 0,1 M, agua destilada, EDTA 0,05M y agua destilada, para remover las partículas de suelo adheridas a la superficie del material vegetal (Ginocchio et al., 2002). Luego de cuantificar la biomasa de cada estructura en balanza analítica, para cada planta, el material vegetal fue secado en estufa a 60°C por dos días y triturado para su análisis. La concentración de cobre en la biomasa aérea fue determinada, mediante espectrofotometría de absorción atómica, luego de la digestión ácida de la muestra, siguiendo el método de Sadzawka et al. (2007).

Para el aseguramiento y control de calidad de los resultados en suelos, se analizaron dos muestras de referencia: 1570a (espinaca) y 1573a (tomate) del National Institute of Standards and Technology. Se aceptó una diferencia entre el

---

<sup>34</sup> Se decidió esperar al segundo año de cultivo, ya que ensayos preliminares indican que al menos *O. picensis* no presenta su potencial acumulador de cobre en el primer año de vida. Durante el 1° año la especie acumula principalmente en raíces para, en el 2° año, translocar el cobre a su parte aérea

valor certificado y el valor obtenido de un 10%.

- Cálculo de la extracción de cobre por biomasa aérea, individuo y unidad de superficie

Con los datos de biomasa y concentración de cobre en la biomasa aérea en cada individuo muestreado, se calculó la extracción efectiva de cobre por individuo

$$\begin{aligned} & \text{Extracción de cobre por individuo} \left[ \frac{mg}{\text{individuo}} \right] \\ &= \sum (\text{biomasa de cada estructura aérea [kg]} \\ & \quad * \text{conc. de Cu de cada estructura aérea [mg/kg]}) \end{aligned}$$

Luego, para cada especie y tratamiento, promediando la extracción de los 3 individuos muestreados en cada unidad experimental, se calculó la extracción promedio por unidad de superficie (por cuadrante).

Incorporando los datos de extracción promedio por cuadrante, la sobrevivencia en cada unidad experimental y la distancia de plantación de cada especie, se calculó la extracción de cobre proyectada a un metro cuadrado.

$$\begin{aligned} & \text{Extracción de Cu proyectada por superficie} \left[ \frac{mg}{m^2} \right] \\ &= \text{Promedio de extracción} \left[ \frac{mg}{\text{individuo}} \right] * \frac{\text{Sobrevivencia}}{\text{marco plantación}^2 \left[ \frac{\text{individuos}}{m^2} \right]} \end{aligned}$$

- Análisis estadístico de resultados

Dado que el ensayo se realizó durante 2 años, se analizó en primer lugar, mediante análisis ANOVA si hubo diferencias entre ambos años, para las variables dependientes medidas y calculadas.

Luego, se analizó mediante ANOVA la influencia de los tratamientos sobre las variables edáficas:

- Cobre soluble
- Cobre intercambiable:
- $pCu^{+2}$
- pH
- Nitrógeno
- Potasio asimilable
- Fósforo

Se utilizó un  $\alpha=0,05$  y luego del análisis ANOVA se realizó un test de Tukey con el mismo nivel de confianza, para identificar diferencias entre tratamientos.

Posteriormente se analizó la relación de las variables dependientes (biomasa, concentración de Cu foliar y extracción) con las variables edáficas antes mencionadas. Se optó por analizar los resultados mediante un modelo de regresión múltiple<sup>35</sup>, dada la alta variabilidad en los parámetros el suelo, entre cuadrantes de un mismo tratamiento, que probablemente impediría ver diferencias en un análisis de varianza. Se realizó un análisis de regresión para explicar las variaciones en las

<sup>35</sup> Modelo de regresión múltiple  $y=b_0+ b_1.x+b_2.x_2+ b_3.x_3+ b_k. x_k+u$ , donde u es el error aleatorio.

variables dependientes en base a las variables edáficas. Además de las variables edáficas antes mencionadas también se consideraron otras variables que no dependieron de los tratamientos, pero presentaron una amplia variación espacial dentro de la parcela y por lo tanto deben analizarse:

- Cobre total
- Materia orgánica

Estas últimas variables, según antecedentes y experiencias previas, influyen significativamente sobre la extracción de cobre (Ginocchio et al., 2002).

Previo al análisis por regresión se comprobaron los supuestos del error que permiten asegurar un análisis sin sesgo:

- los errores y las variables se distribuyen  $N(0, \sigma^2)$
- La varianza es homogénea
- Los errores son independientes entre sí
- Los errores son independientes del valor de las  $X_j$

Dado que el valor de las variables edáficas es único para cada cuadrante, para las variables dependientes se utilizaron los valores promedio de los tres individuos muestreados en cada unidad experimental, para el análisis por regresión.

Para los análisis se empleó el Software Minitab 15, utilizando, para la generación del modelo de regresión, la herramienta Stepwise, que permitió identificar que variables edáficas influyeron sobre la extracción en cada especie. Previo al stepwise se realizó un análisis de correlación entre las variables para eliminar aquellas que estuvieran fuertemente correlacionadas.

- Determinación de manejos agronómicos que mejoran la extracción

Una vez identificadas las variables edáficas que influyeron sobre la extracción en cada especie, se estableció si para dichas variables hubo influencia de los tratamientos aplicados. Luego, se determinaron los valores óptimos que deben tomar las variables para obtener la mayor extracción de cobre en cada especie. De no existir relación entre la aplicación de los tratamientos y las variables que aumentaron la extracción, se descartaron los manejos agronómicos como alternativa de mejoramiento de la fitoextracción.

#### 5.5.3.2. Ensayo 2: Muestreo de especies *in situ* a lo largo de un ciclo, para la determinación del estado fenológico en que presentan la máxima concentración de Cu en su biomasa aérea.

En este caso, no se evaluó una estrategia de mejoramiento de la extracción de Cu sino que, mediante el levantamiento de información sobre la evolución de la acumulación de Cu en distintos estados fenológicos, se determinó el momento ideal de cosecha de cada especie, el cual se aplicó en el resto de los ensayos realizados.

- Objetivo asociado:

4-b).- Identificar el estado fenológico en que las especies estudiadas presentan la mayor concentración de cobre en la parte aérea, el que corresponderá al momento ideal de cosecha de la especie, para obtener la mayor extracción

- Duración del ensayo

9 meses (marzo 2007-febrero 2008)

- Localización y diseño del muestreo

El muestreo de las tres especies se localizó en un sector de matorral en las cercanías del poblado de Los Maitenes, comuna de Puchuncaví (descrito como sitio C, Figura 55). En base a un estudio exploratorio, se seleccionó un área de aproximadamente 80 x 80 m<sup>2</sup>, donde se desarrollaran *B. linearis*, *O. picensis* y *A. Subfusiformis*, en abundancia. Considerando las heterogeneidades en los parámetros químicos del suelo, que pudiesen afectar las concentraciones de cobre en la biomasa aérea en las especies, se preseleccionaron tres sectores, donde se muestreó suelo, para finalmente escoger aquel donde las variaciones de cobre total y soluble fuesen comparativamente menores.

En el área seleccionada se realizaron muestreos de las tres especies seleccionadas a lo largo de una temporada, coincidiendo con los distintos estados fenológicos de éstas. Se realizaron 7 muestreos. En cada muestreo, se colectaron tres individuos<sup>36</sup> para cada especie (Figura 62).

- Variables de medición directa

- Biomasa por partes (raíz, hoja, tallos, flores) y total por individuo
- Cobre en tejidos vegetales (raíz, hojas, tallos, flores)
- Estado fenológico de cada individuo muestreado

- Variables de medición indirecta

- Extracción total por individuo

- Determinación del estado fenológico

Para cada individuo muestreado, se determinó el estado fenológico, según la siguiente clasificación:

Herbáceas (O. <i>picensis</i> y A. <i>subfusiformis</i> )	Roseta <sup>37</sup> , vegetativo elongado, inicio floración <sup>38</sup> , floración plena <sup>30</sup> , fructificación <sup>30</sup> , producción de semillas, senescencia
Arbustiva ( <i>B. linearis</i> )	Juvenil vegetativo, Vegetativo, floración, inicio floración

<sup>36</sup> La determinación de repeticiones siguió un criterio económico, ya que no se contaba con mayor presupuesto para el análisis elemental de más muestras, considerando que para cada muestra se separaban las partes, con el fin de lograr mayor precisión en los resultados.

<sup>37</sup> Este estado de desarrollo se define por la disposición circular de las hojas en que todas se encuentran a la misma altura. Posteriormente la planta se elonga pasando a un estado vegetativo que definiremos como "elongado".

<sup>38</sup> Cada uno de estos estados fenológicos reproductivos se definieron en función del % de los botones florales, flores, frutos verdes y frutos secos presentes en la planta.



**Figura 62. Prospección de especies. 3,4 y 7º muestreo.**

Fuente: elaboración propia

- Determinación de biomasa y análisis de cobre en los tejidos vegetales

Luego de cada uno de los muestreos en terreno, los tejidos vegetales separados en las diferentes estructuras (raíz, tallo, hojas, flores, frutos) y lavados siguiendo la secuencia: agua potable, HCl 0,1 M, agua destilada, EDTA 0,05M, agua destilada. Posteriormente fueron secados en estufa a 60°C por dos días. Luego se determinó la biomasa de cada estructura para cada individuo utilizando una balanza analítica y posteriormente las muestras fueron trituradas para su análisis (Ginocchio et al., 2002). La concentración de cobre en la biomasa aérea fue determinada, mediante espectrofotometría de absorción atómica, luego de la digestión ácida de la muestra, siguiendo el método de Sadzawka et al. (2007). Para las muestras foliares se utilizaron también dos muestras de referencia: 1570a (espinaca) y 1573a (tomate) del National Institute of Standards and Technology.

- Cálculo de la extracción de cobre por individuo

En base a la determinación de biomasa de cada estructura vegetal aérea y cobre en cada una de las estructuras vegetales aéreas de cada individuo, se calculó la extracción de cobre en cada individuo

$$\begin{aligned}
 & \text{Extracción de Cu en individuo} \left[ \frac{mg}{\text{individuo}} \right] \\
 & = \sum \text{biomasa de cada estructura aérea} [kg] * \text{conc de Cu en cada estructura aérea} \left[ \frac{mg}{kg} \right]
 \end{aligned}$$

- Análisis estadístico de resultados

Se analizaron estadísticamente los resultados para las variables biomasa, concentración de Cu, extracción de Cu en cada especie, determinando si existían diferencias significativas entre los distintos estados fenológicos. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un  $\alpha=0,05$  y posteriormente un test de Tukey para identificar estados fenológicos similares y diferentes.

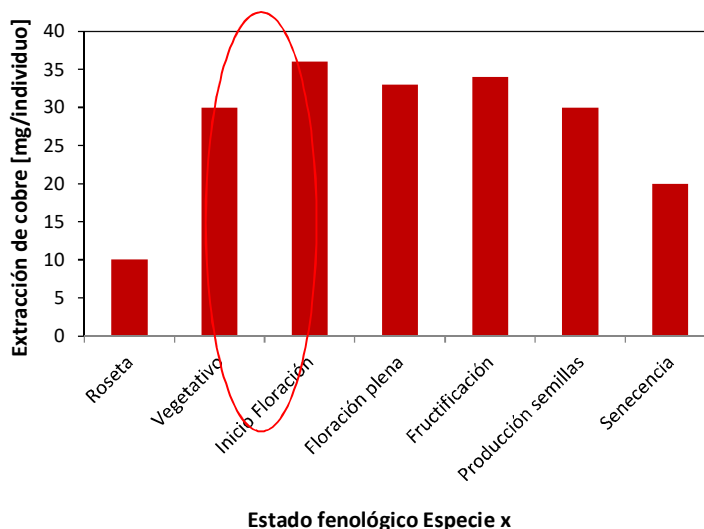
- Determinación del estado fenológico de mayor acumulación

Los resultados de extracción de cobre promedio, en cada estado fenológico y para cada especie, se presentaron en gráficas de estado fenológico vs extracción de



cobre por individuo, para cada especie (ejemplo en Gráfico 1). Finalmente, en base a los resultados estadísticos, para cada especie vegetal, se seleccionó el estado fenológico en que se presentó la mayor extracción total de cobre. Este estado fenológico se identificó como el momento ideal de cosecha para cada especie.

Una vez que se identificó el estado fenológico donde se presentó la mayor acumulación, las cosechas de los siguientes ensayos se realizaron siempre en dicho momento.



**Gráfico 1. Modelo de gráfico de estado fenológico vs extracción de cobre por individuo.**

Fuente: elaboración propia

#### 5.5.3.3. Ensayo 3: Evaluación *ex situ* del efecto de la adición de un quelante biodegradable al suelo sobre la capacidad de extracción de las especies estudiadas.

- Objetivo asociado:
- Determinar el efecto de la adición de un quelante biodegradable al suelo sobre la solubilidad del Cu y su extracción por parte de *O. picensis*.
- Duración del ensayo
- 10 meses (abril-diciembre 2008)
- Ubicación y diseño experimental

La aplicación de quelantes conlleva un riesgo de lixiviación de metales en el suelo. Por este motivo, antes de probar los quelantes en terreno, se decidió realizar un ensayo previo en condiciones controladas. Estos ensayos preliminares se desarrollaron en condiciones *ex situ*, en dependencias externas del Laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, en la comuna de Quillota, Región de Valparaíso (Figura 55).

El ensayo consistió en probar el efecto de distintas dosis de quelantes sobre la extracción y lixiviación de Cu, en columnas de PCV de distinta altura rellenas con suelo del área de estudio.

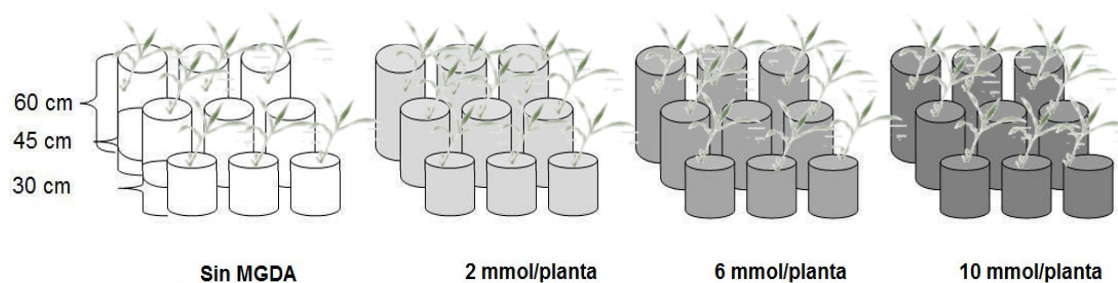
Dada la limitada disponibilidad de tiempo y recursos (que impedían realizar

dos ensayos paralelamente), se pudo evaluar el quelante solamente para una especie (*O. picensis*).

El ensayo constó de cuatro tratamientos. Se probaron tres concentraciones de quelante para cada especie: 5, 15 y 25 mM, de acuerdo a resultados de investigaciones internacionales (se discutió en sección 1.3.3.3) y se agregó un control, sin aplicación de quelantes.

Además se probaron 3 alturas de columna, que representaron 3 diferentes profundidades de suelo 3, 45 y 60 cm, con el fin de evaluar la lixiviación a diferentes profundidades. Para cada combinación tratamiento/altura columna, se establecieron 3 repeticiones.

En consecuencia, el ensayo contó con 36 unidades experimentales (Figura 63). El diseño fue completamente al azar.



**Figura 63. Esquema del diseño experimental del ensayo con Trilon M.**

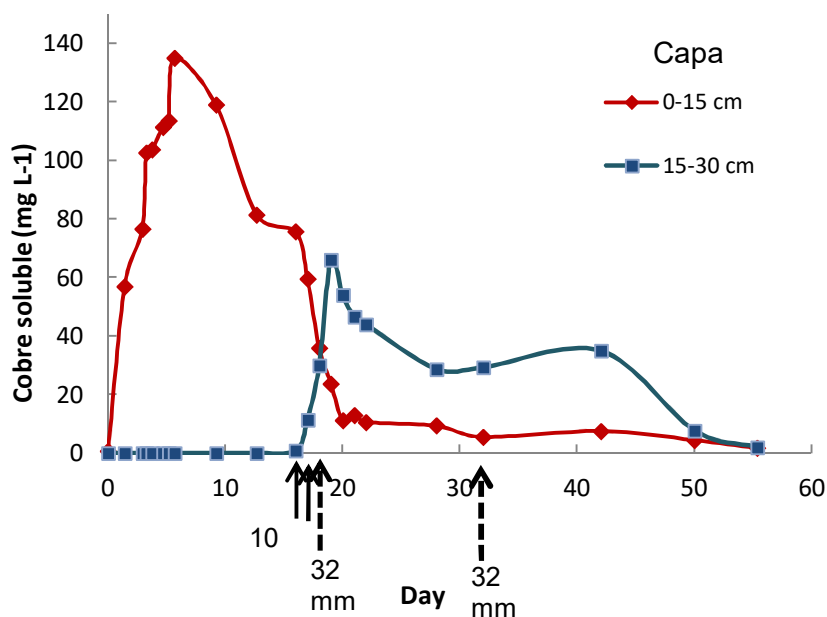
Fuente: elaboración propia

- Quelante utilizado

En el ensayo se utilizó el ácido Metil Glicin Diacético, comercialmente llamado Trilon M, por ser un quelante rápidamente biodegradable (ficha técnica BASF, 2015), que en teoría no presenta riesgos de aumentar la lixiviación de los metales en el suelo, al contrario de lo que sucede con el EDTA, el quelante más utilizado como estrategia de mejoramiento de la extracción actualmente, pero que genera altas tasas de lixiviación (se discutió en sección 1.2.3.3.).

- Pre ensayo de lixiviación

Previo a la ejecución del ensayo, se ejecutó un pre-ensayo en columnas (60 cm) con suelos del área de estudio, a los cuales se aplicó 5 mmol de MGDA y agua para mantener el suelo a capacidad de campo. Diariamente se obtuvo el agua de poro a diferentes alturas de la columna para evaluar la lixiviación del Cu en el perfil, En cuatro ocasiones se simuló lluvias leves y fuertes, para evaluar el efecto de estos eventos en la lixiviación. Los resultados mostraron que la concentración de Cu soluble aumenta a un máximo el día 5 en la primera estrata (0-15 cm) y luego vuelve a la normalidad el día 55. Si bien las lluvias fuertes generan una lixiviación del Cu hacia la segunda estrata (15-30), las concentraciones en esta capa vuelven a los valores normales a los 50 días. El Cu soluble en la tercera estrata (30-45 cm) no varió durante el ensayo, lo que indicó que el quelante es apto para ser utilizado para la remediación de los suelos de Los Maitenes, ya que no produce lixiviación a las napas subterráneas (que se hallan a 11 metros de profundidad) (Gráfico 2).



**Gráfico 2. Variación temporal de la solubilidad del cobre luego de la aplicación de 5 mmol/planta al suelo, a diferentes profundidades.**

Se indican con una flecha las simulaciones de lluvia leve y fuerte  
Fuente: elaboración propia

- Obtención, tratamiento y caracterización de suelos para ensayo

Para simular al máximo las condiciones de terreno, se colectó suelo proveniente de Los Maitenes, en un sector representativo del ecosistema de matorral degradado (Sitio C Figura 55), a varias profundidades (0-15, 15-30, 30-45, 45-60 cm) con el fin de reproducir en laboratorio las condiciones y concentraciones de Cu en el suelo en estudio (Figura 64). El suelo fue transportado al Laboratorio de Suelos y Análisis Foliar de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Posteriormente fue secado a temperatura ambiente, mezclado en betonera por capas y tamizado en un tamiz de grueso, de 1 cm, para eliminar las piedras. Se tomaron muestras de cada capa para su posterior análisis (Cu total, pH y materia orgánica), según los métodos indicados en la sección 5.3.



**Figura 64. Recolección de capas de las distintas estratas de suelo en sector de matorral de Los Maitenes, para ensayos de quelantes *ex situ*.**

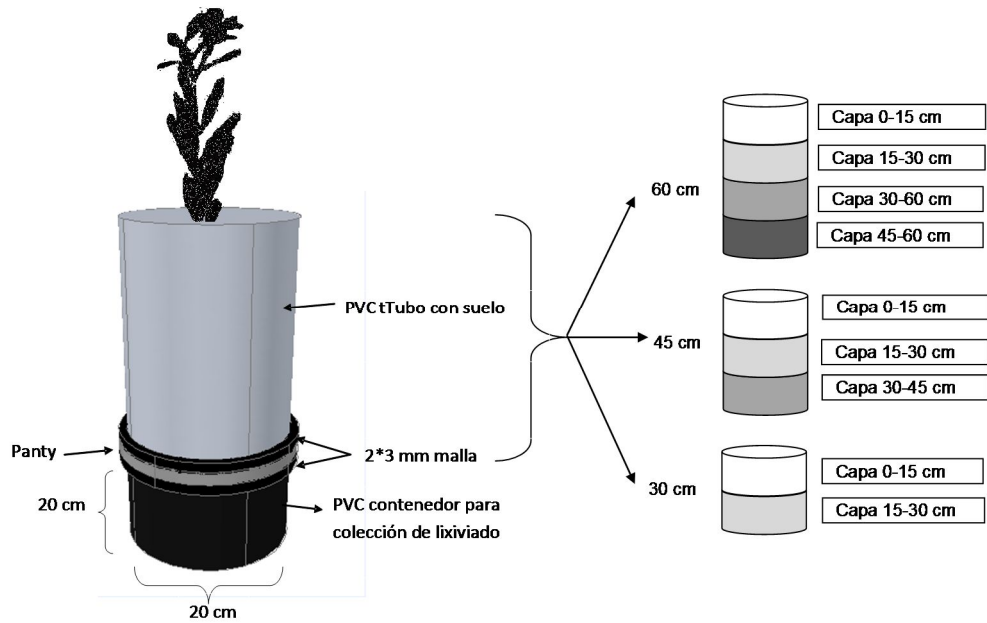
Fuente: elaboración propia

- Montaje del ensayo *ex situ*

El suelo fue empacado, por capas, en tubos de PCV de 20 cm de diámetro y 60, 45 o 30 cm de altura. Se adosó malla (panty y rachel) en el fondo de los tubos para evitar la pérdida de suelo y al mismo tiempo permitir la recuperación de lixiviado en un recipiente dispuesto bajo cada tubo (Figura 65).

Una vez empacado el suelo en los tubos, se trasplantaron plántulas de aproximadamente un mes de la especie correspondiente (en este caso, solo *O. picensis*)

Los tubos fueron ubicados en un sector al aire libre (Figura 66), con el fin de recibir directamente el agua lluvia, simulando las condiciones de campo. Hasta el inicio del período de lluvias, las plantas se mantuvieron con riego día por medio (100 mm), considerando la capacidad de campo y la tasa de evaporación en la zona y simulando un sistema de riego (a gran escala). Una vez iniciado el período de lluvias se suspendió el riego.



**Figura 65. Esquema del montaje de la unidad experimental.**

Fuente: elaboración propia



**Figura 66. Columnas experimentales dispuestas al aire libre.**

Fuente: elaboración propia

- Aplicación del quelante

La dosis total de MGDA por tratamiento se dividió en dos aplicaciones de 1, 3 y 5 mmol/planta, diluidos en 200 mL de agua. Al inicio del período reproductivo de las plantas, a mediados de primavera (cuando presenta la mayor biomasa), se aplicó una dosis de 100 mL de Trilon en la concentración correspondiente, a cada tubo. La segunda aplicación se realizó un mes después de la primera, con el objeto de mantener constante una alta disponibilidad del metal, principalmente en la primera estrata, dado que la alta degradabilidad del quelante podría provocar que esta disminuyera rápidamente. Esta forma de aplicación evita el riesgo de senescencia y muerte de las plantas. Frecuentemente una sola aplicación en mayor cantidad

provoca excesiva toxicidad y las plantas mueren. La aplicación en dos dosis evita que el quelante disuelva todo el cobre de una sola vez, evitando además una mayor lixiviación del metal en el perfil (Hauser, 2003; Puschenreiter et al., 2001).

- Variables de medición directa

*Foliales:*

- Biomasa aérea
- Concentración de cobre en la biomasa aérea

*Suelos:*

- Cobre total por estrata
- Cobre intercambiable por estrata
- Cobre soluble por estrata
- $pCu^{+2}$  por estrata
- N, P y K disponibles por estrata
- pH por estrata

*Lixiviado:*

- Cobre pseudototal

- Variables de medición indirecta

- Extracción total por individuos

- Determinación de biomasa, concentración de Cu foliar y extracción total de Cu

Para la determinación del efecto del quelante sobre la extracción, para cada tratamiento, se consideraron las columnas de diferente altura como repeticiones similares, ya que las raíces de la planta en el primer año no superan los 20 cm (observaciones hechas en muestreo en terreno). Por ende, este análisis consideró solo el factor tratamiento. Cada tratamiento constó de 9 repeticiones.

Transcurrido un mes a partir de la aplicación de la última dosis de quelante, las plantas fueron cosechadas separándose en sus diferentes estructuras (raíz, hojas, tallos, flores/frutos). Las estructuras aéreas fueron lavadas siguiendo la secuencia: agua potable, HCl 0,1 M, agua destilada (Carbonell-Barrachina et al., 1998). Las raíces fueron lavadas con agua potable, HCl 0,1 M, agua destilada, EDTA 0,05 M y agua destilada (doble lavado), siguiendo el método de Ginocchio *et al.* (2002).

Una vez lavadas, las plantas fueron secadas a 60°C. Posteriormente se determinó la biomasa de cada estructura para ser finalmente trituradas para su análisis.

El cobre total, para cada estructura vegetal, se analizó por absorción atómica luego de la calcinación de las muestras (Sadzawka et al., 2007).

- Cálculo de la extracción de cobre por parte aérea de individuo

Una vez obtenidos los resultados de laboratorio, de biomasa y concentración de cobre en cada estructura vegetal, se calculó la extracción de Cu para cada

individuo según la fórmula:

$$\begin{aligned} & \text{Extracción de cobre por individuo} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{individuo}} \right] \\ &= \sum (\text{biomasa de cada estructura aérea [kg]} \\ & \quad * \text{conc. de Cu de cada estructura aérea [mg/kg]}) \end{aligned}$$

Utilizando los datos de extracción de cobre por individuo se analizaron estadísticamente los datos.

- Análisis final de suelos y lixiviado

Para la determinación del efecto del quelante sobre la lixiviación se consideró la altura de las columnas como una variable independiente, por tanto el análisis estadístico fue bifactorial (tratamiento x altura columna). Cada combinación tratamiento/altura columna se realizó por triplicado.

El lixiviado fue recolectado, una vez terminado el ensayo, en cada una de las columnas, filtrado y acidificado para posteriormente determinar el cobre soluble mediante espectrometría de absorción atómica. En el caso de detectarse una alta presencia de cobre en el lixiviado de algún tratamiento, en comparación al control, la interpretación fue que la dosis de quelante aplicada era muy alta o el quelante es de lenta degradabilidad.

Por otro lado, previo al inicio del ensayo, las capas de suelo muestreadas fueron caracterizadas para su concentración de Cu pseudototal, intercambiable, soluble y libre ( $\text{pCu}^{+2}$ ), concentración de NPK disponible y su pH. Al final del ensayo, los suelos de cada tubo de 60 cm fueron separados en las estratas tal como se empacaron (0-15, 15-30, 30, 30-45, 45-60 cm) con el fin de tomar una muestra de cada capa y evaluar en ellas la variación de estas variables. Esto, unido al análisis del lixiviado, permitió evaluar si hubo movilización del cobre, así como de los nutrientes del suelo.

- Análisis estadístico de resultados

Para el análisis del efecto del quelante sobre la extracción de cobre por *O. picensis*, se utilizó un diseño completamente al azar, de una vía, donde la extracción de cobre por individuo depende de la concentración de quelante aplicada. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) con una confianza del 95% para evaluar el efecto del tratamiento sobre la respuesta. Para evaluar las diferencias entre tratamientos se utilizó el test de Tukey con una confianza de 95%. Se utilizó el software MINITAB 15 para Windows.

Por otro lado, la elección de la dosis adecuada de Trilon estuvo sujeta a los resultados del análisis de lixiviados y de suelos. Se analizó mediante un ANOVA y posterior test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ), el efecto de las dosis de MGDA y de las diferentes alturas de la columna, sobre la concentración de cobre en el lixiviado. Para esto, se consideró un diseño multifactorial dependiente de la altura de la columna y el tratamiento.

Además, se evaluó mediante ANOVA y test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ) el efecto de las dosis de MGDA sobre el aumento de la concentración de las diferentes fracciones de Cu en las distintas estratas, así como la concentración de nutrientes, en función de la dosis de quelante aplicada.

- Determinación de la eficiencia del quelante en la extracción de Cu y selección de dosis adecuada

En el caso de que el análisis estadístico revelase un aumento significativo en la extracción de Cu, se consideró la adición de quelante como un tratamiento efectivo. Se escogió aquel tratamiento que generase un aumento significativo de la extracción de Cu.

En relación a la lixiviación, se consideró como negativo un aumento significativo de la concentración de cobre en el lixiviado en los tratamientos con quelante en comparación al control. Si a los 60 cm aún las concentraciones de cobre en el lixiviado fueron significativamente más altas que en el control de la misma altura<sup>39</sup>, se consideró que la dosis utilizada de quelantes fue muy alta o en definitiva (si esto sucediese a la concentración menor de quelante) que no era recomendable el uso de este quelante como mejorador de la fitoextracción.

En relación al análisis final de suelo en las diferentes estratas, se consideró deseable que no existiesen alteraciones significativas de las concentraciones de Cu y nutrientes, principalmente en las estratas más profundas. Sin perjuicio de ello, el desplazamiento de nutrientes en el suelo en las primeras estratas no influyó sobre la determinación del mejor tratamiento<sup>40</sup>.

#### 5.5.3.4. Ensayo 4: Selección fenotípica de individuos de *O. picensis* y *A. subfusiformis* con mayor capacidad de extracción de Cu

- Objetivo asociado:

Obtener mediante selección fenotípica y para cada especie herbácea estudiada, semilla de individuos fenotípicamente homogéneos con una media de extracción de cobre mayor que la población original.

- Duración del ensayo

Duración prevista: 2 años, 9 meses (marzo 2008-diciembre 2010)

Duración real: 2 años, 2 meses (marzo 2008-mayo 2010)

- Ubicación y diseño experimental

El ensayo se ubicó inicialmente en una parcela agrícola en la localidad de Los Maitenes (descrito como sitio A en la sección 5.1, Figura 55). En su segunda etapa se ubicó en el sitio perteneciente a CODELCO en el camino hacia la localidad de Los Maitenes (descrito como sitio A en la sección 5.1, Figura 55).

#### Primera etapa-selección:

La primera etapa consistió en el cultivo de 4 poblaciones de *O. picensis* y *A. subfusiformis* para la selección fenotípica de individuos de alta extracción. El ensayo

<sup>39</sup> Una lixiviación a esta profundidad puede significar que el metal puede continuar desplazándose a la napa subterránea

<sup>40</sup> Esto, porque el fin último del ensayo es remover el cobre del suelo. De producirse una merma de nutrientes en el suelo, es posible mitigarla mediante la aplicación posterior de enmiendas orgánicas o fertilizantes.



se inició sobre la base de una población con la mayor diversidad posible, intentando recoger la mayor diversidad genética. Las poblaciones provenían de áreas en la región. Para *O. picensis* se muestreó en Los Maitenes (área de estudio), Maitencillo, Ventanas y Valle Alegre. Para *A. subfusiformis* se muestrearon individuos en Los Maitenes, Quintero, Viña del Mar y Maitencillo (ver Figura 27).

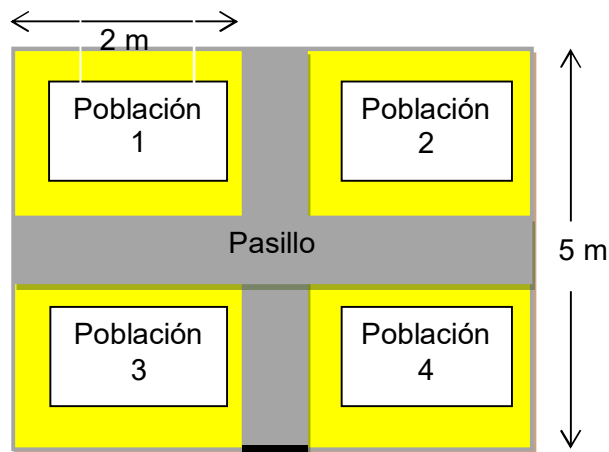
Este mejoramiento se aplicó a las especies herbáceas, ya que ambas son autocompatibles y, en el caso de *O. picensis*, presenta cierto grado de autopolinización natural (Dietrich, 1977). Para *A. subfusiformis* no existe información, aunque algunas especies de la misma familia (*Argemone mexicana* por ejemplo) se han descrito como de autopolinización (Bosch, 2007). Este ensayo no se planificó para *B. linearis* por corresponder a una especie dioica, cuya fecundación es difícil de manejar.

Las poblaciones de cada especie se cultivaron en parcelas de 5 x 5m<sup>2</sup> ubicadas en el sector B descrito en la sección 5.1. En esta parcela el suelo fue homogeneizado en su capa superficial (0-20 cm, utilizando herramientas agrícolas). La parcela se subdividió en sub-parcelas de 2 x 2 m<sup>2</sup> para cada población (Figura 67). Se trasplantaron en cada subparcelas 36 individuos de un mes de desarrollo (marco plantación 0,4 x 0,4).

En un primer ciclo se cultivaron las plantas de las 4 poblaciones, para cada especie. Las plantas fueron mantenidas con riego dos veces por semana ante eventos de escases de agua. Las estructuras reproductivas fueron cubiertas con bolsas de gasa para forzar la autopolinización (Figura 68) con el fin de fijar las características de las especies (aumentar la homocigocis), extrayéndose, al final del ciclo, las semillas de cada individuo y almacenándose por separado, con la identificación de la planta. Las flores que no alcanzaron a cubrirse con tul fueron descartadas.

Luego, las plantas prosiguieron su ciclo natural en el que pasaron a la senescencia y al próximo año volvieron a desarrollarse desde sus estructuras subterráneas. Al final del segundo ciclo, durante el inicio de la segunda floración, se cosecharon los individuos de cada planta. Luego del análisis de Cu (se explica más abajo) en sus estructuras aérea y el cálculo de la extracción total por individuo (se explica más abajo), se seleccionaron los 3 individuos con mayor extracción, desechando el resto de las semillas almacenadas.

Cabe mencionar que *Argemone subfusiformis* no sobrevivió al primer ciclo, tal como sucedió en el ensayo inicial. Por esto (se explica en sección 6.1) la especie fue descartada para su uso en el resto de la investigación.



**Figura 67. Diseño parcelas de selección fenotípica para el primer y segundo ciclo de cultivo.**

Fuente: elaboración propia

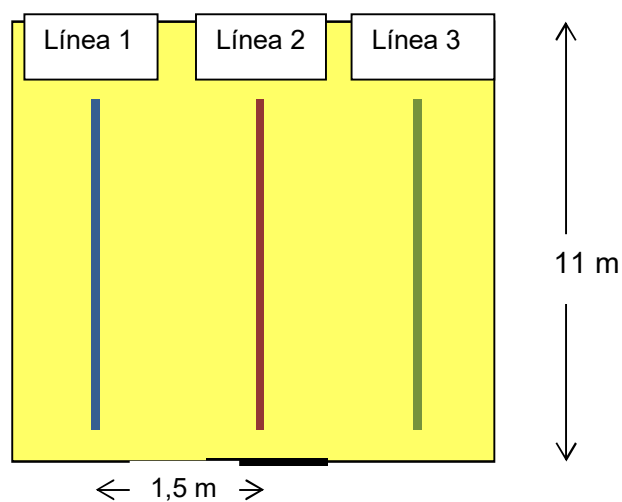


**Figura 68. Encapsulamiento de las estructuras reproductivas de las flores de *O. picensis* para evitar la polinización cruzada, en Maitencillo.**

Fuente: elaboración propia

Segunda etapa: propagación

La segunda etapa, que se siguió solo para *O. picensis* debido a que *A. subfusiformis* no sobrevivió, se desarrolló en una parcela de 11 x 4 m<sup>2</sup>, ubicada en el sitio perteneciente a CODELCO (descrito como sitio A en la sección 5.1, Figura 55). Esta etapa se inició con la siembra de aproximadamente 60 semillas de cada uno de los 3 individuos seleccionados por cada especie, en líneas puras (Figura 69). El 50% de las plantas de cada línea se autopolinizaría, colectándose las semillas. Paralelamente, el otro 50% de los individuos se cosecharían al llegar al inicio del estado reproductivo. Estas plantas serían analizadas para su concentración de cobre, la cual se compararía, mediante análisis estadístico, con la extracción promedio del conjunto de poblaciones iniciales. Si hubiese una diferencia significativa en las medias, se consideraría que hubo una mejora genética.



**Figura 69. Esquema de la parcela para la segunda etapa del ensayo en la que se cultivarían las semillas de los individuos seleccionados, en líneas “puras”.**

Fuente: elaboración propia

- Variables medidas
  - Supervivencia
  - Biomasa aérea
  - Concentración de cobre en biomasa aérea
- Variables de medición indirecta
  - Extracción total de Cu por individuo
- Determinación de biomasa y concentración de Cu en biomasa aérea en segundo ciclo (primera etapa)

Al fin del segundo ciclo de las plantas, al momento de iniciarse el estado reproductivo, se cosecharía la biomasa aérea de todas las plantas. Las plantas serían llevadas a laboratorio, separadas en estructuras (hojas y tallos), y lavadas siguiendo la secuencia: agua potable, HCl 0,1 M, agua destilada, EDTA 0,05 M y agua destilada (doble lavado), descrita por Ginocchio *et al.* (2002).

Una vez lavadas las plantas éstas serían secadas en estufa a 60° por 48 horas y luego de medir su biomasa en balanza analítica, serían trituradas para su posterior análisis.

Las muestras serían digeridas siguiendo el método de calcinación de Sadzawka (2007) y posteriormente analizadas para cobre por espectrometría de absorción atómica.

Para las muestras foliares se utilizarían dos muestras de referencia: 1570a (espinaca) y 1573a (tomate) del National Institute of Standards and Technology.

- Cálculo de la extracción de cobre por individuo (segundo ciclo, primera etapa)

Una vez obtenidos los resultados de biomasa y concentración de cobre para cada planta y estructura cosechada, se calcularía la extracción de cobre de cada individuo.

$$\begin{aligned} & \text{Extracción de cobre por individuo} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{individuo}} \right] \\ & = \sum (\text{biomasa de cada estructura aérea [kg]} \\ & \quad * \text{conc. de Cu de cada estructura aérea [mg/kg]}) \end{aligned}$$

En base a estos resultados, se escogerían los tres individuos que mostrasen la mayor extracción de cobre.

Adicionalmente, se realizaría un análisis de varianza (ANOVA) para establecer si existen diferencias significativas en la extracción de las distintas poblaciones de cada especie. Esto se realizó utilizando el Software Minitab 15 para Windows. Este análisis no sería factor decisivo para el proceso de selección.

- Determinación de biomasa y concentración de Cu en biomasa aérea en segunda etapa

En la segunda etapa, se cosecharía el 50% de los individuos de cada línea pura y la biomasa y concentración de Cu en las estructuras aérea se determinarían de la misma forma que en el primer ciclo.

- Cálculo de la extracción de cobre por individuo

Una vez obtenidos los resultados de laboratorio para cada planta cosechada, se calcularía la extracción de cobre de cada individuo con la misma fórmula utilizada para el cálculo de la extracción en la primera etapa.

- Análisis estadísticos, segunda etapa

Con los datos de extracción de cobre, se realizaría un análisis estadístico, comparando la media de extracción de la población original de *O. picensis* (promedio de las 4 poblaciones de la etapa 1) con la media de extracción de cada una de las líneas puras, mediante un análisis ANOVA, usando el software Minitab 15 para Windows. De esta forma se podría evaluar si efectivamente el primer año de selección surtió efecto sobre la homogenización de la población (disminución de la varianza en la extracción de Cu) y si se logró aumentar significativamente el valor de la media de extracción de Cu.

- Determinación de la eficiencia de la selección

Si el análisis estadístico arrojase que ha habido un aumento de la media de la extracción de Cu y una disminución de la variabilidad entre individuos entonces se consideraría que la selección genética en base a fenotipo fue exitosa. De ser así, la semilla de cada línea pura sería mezclada, constituyendo un banco de semillas de una línea mejorada. De lo contrario, se necesitaría un nuevo ciclo de selección. Si al segundo año de selección tampoco se obtuviera un avance significativo, esto hubiese significado que la selección no es una buena estrategia para el mejoramiento de la

extracción en estas especies (probablemente porque la heredabilidad es baja), por lo que sería preferible continuar utilizando semillas de poblaciones mezcladas.

#### 5.5.3.5. Selección, por especie, de las estrategias de mejoramiento de la extracción más eficientes

Una vez concluidos los ensayos para las tres especies en estudio, se analizaron los resultados globales. Para cada especie, se seleccionaron aquellas estrategias que consiguieron mejoras estadísticamente significativas en la extracción de cobre. Esto, excluyendo la determinación del momento ideal de cosecha, que no constituía una técnica de mejoramiento a evaluar, sino una mejora que se aplicaría a las tres especies, sin mediar condición. En consecuencia, para cada especie podrían seleccionarse dos, tres o cuatro de los mejoramientos. En el caso de *Baccharis linearis*, se podrían seleccionar dos o tres técnicas ya que no se evaluó la selección fenotípica.

#### 5.5.4. Ensayo final: Evaluación del efecto combinado de las estrategias de mejoramiento y selección de especie más eficiente en la remoción de cobre,

NOTA: Para describir adecuadamente esta sección de la metodología, se debe adelantar, tal como se ha mencionado en secciones anteriores, que luego del desarrollo de varias actividades, se debió descartar el uso de *A. subfusiformis* pues esta no prosperó en los ensayos, a pesar de varios intentos de propagación (en almácigos y siembra directa) y replantes, por lo que en esta sección se hace referencia solo a *O. picensis* y *B. linearis*. Además, se debe adelantar, que de las tres técnicas de mejoramiento evaluadas para el objetivo 4, se seleccionaron, para esta etapa, la adición de quelante degradable y la adición de materia orgánica.

- Objetivo asociado:

3.- Conocer el comportamiento del cobre y sus fracciones en el área de estudio

5.- Identificar la combinación entre estrategia(s) seleccionada(s) y especie que logren la mayor eficiencia en la remoción de cobre.

- Duración del ensayo

19 meses (junio 2010-diciembre 2011)

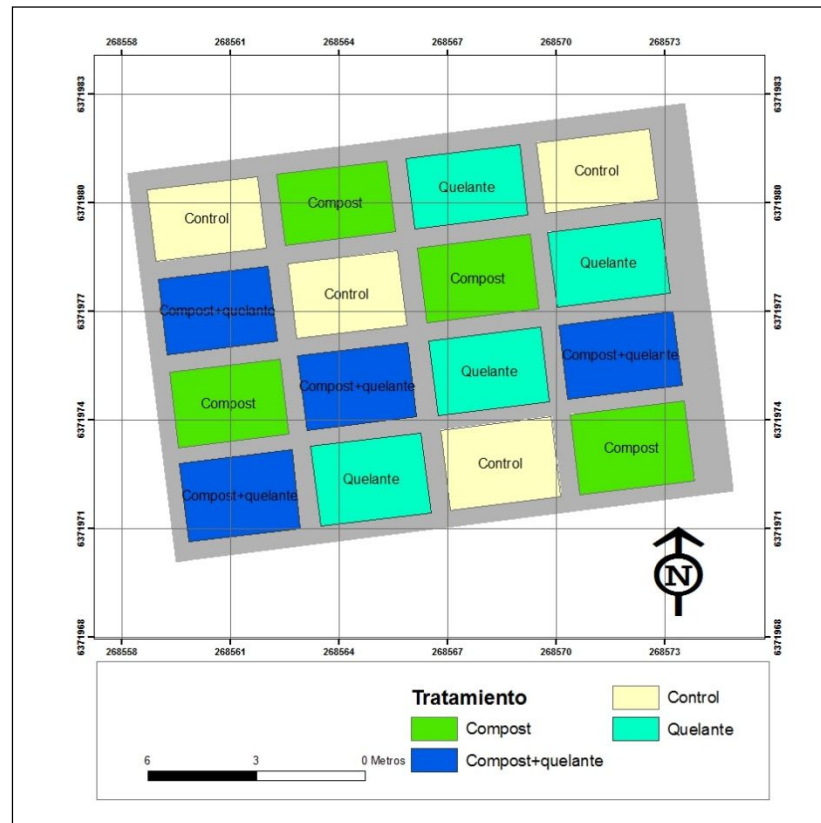
- Ubicación y diseño experimental

El ensayo se ubicó en la propiedad de CODELCO ubicada en el camino hacia la localidad de Los Maitenes (descrita en la sección 5.1 como sitio A, Figura 55).

Las especies *O. picensis* y *B. linearis* se cultivaron en una parcela de 16 x 11 m<sup>2</sup> donde se probaron dos estrategias seleccionadas de las etapas anteriores: la adición de materia orgánica al suelo y la adición de un quelante degradable. Se establecieron por lo tanto, en base a los resultados anteriores, 4 tratamientos a evaluar: compost (7% de materia orgánica), quelante (MGDA 6 mmol/planta), compost + quelante y control (Figura 70).

El diseño considerado fue de parcelas divididas en bloques al azar.

La unidad experimental consistió en cuadrantes de 2 x 3 m<sup>2</sup>. Cada cuadrante se subdividió en dos, disponiendo 3 individuos de *Baccharis linearis* en combinación con 35 de *Oenothera picensis*. Los marcos de plantación fueron de 30 cm para *O. picensis* y de 60 cm para *B. linearis*.



**Figura 70. Esquema de la distribución de los tratamientos en la parcela experimental donde se evaluarán las estrategias de mejora de la fitoextracción seleccionadas.**

Fuente: elaboración propia

- Caracterización físico -química de los suelos de la parcela experimental

Se tomaron muestras compuestas en cada uno de los cuadrantes de la parcela experimental, para determinar sus características iniciales, específicamente Cu pseudototal, Cu intercambiable, pCu<sup>+2</sup>, NPK asimilables, pH, materia orgánica y textura. Estos parámetros se analizaron según los métodos descritos en la sección 5.3. Las muestras se tomaron a una profundidad de 0-5, 5-15 y 15-30 cm antes del ensayo. Después del ensayo las muestras se tomaron a profundidad 0-5 cm solamente, dado que ahí se concentra la contaminación.

- Preparación de la parcela experimental

- Aplicación de compost al suelo

El compost fue adquirido a una empresa, cercana al área de estudio, que fabrica compost a partir del sustrato de descarte del cultivo del champiñón, al cual incorporan guano de ave, pasando por un proceso de compostaje en grandes pilas al aire libre. Las características del compost indican que este es levemente alcalino (Tabla 10), lo que se debe al encalado del guano, utilizado comúnmente para control de olores.

**Tabla 10. Características químicas del compost aplicado**

pH	CE unidad	MO %	C %	N Total	C/N
7.69	10.1	42.3	23.5	1.23	19.11

Fuente: elaboración propia

En base a los resultados del ensayo 1, y las características del compost, se aplicó aproximadamente 5 kg/m<sup>2</sup> en los cuadrantes con tratamiento de compost, con el fin de llegar a un porcentaje de 5-7% de materia orgánica. El compost fue aplicado en el suelo previamente rastrillado e incorporado (primeros 5 cm) con herramientas agrícolas (Figura 71).



**Figura 71. Vista de la parcela experimental, después de la aplicación de compost en los cuadrantes correspondientes a los tratamientos compost y compost + quelante.**

Fuente: elaboración propia

- Germinación y trasplante de plántulas

Los individuos de *B. linearis* fueron propagados por estacas, y mantenidos durante tres meses, en cama fría, bajo plástico. La propagación por estacas es un método más rápido para la obtención de individuos de tamaño adecuado (por semillas tardaría unos 3 años en alcanzar un tamaño aproximado de 50 cm.) (Figura 72). Los individuos se trasplantaron a la parcela en julio del 2010, aproximadamente 10 meses antes del trasplante de *O. picensis*, con la finalidad de que el arbusto alcanzara un crecimiento similar al promedio en etapa adulta.



**Figura 72. Propagación de *Baccharis linearis* mediante estacas, en cama fría bajo plástico, un mes antes del trasplante.**

Fuente: elaboración propia

Los individuos de *O. picensis* se propagaron por semillas y se trasplantaron cuando los plantines tenían un mes de desarrollo (fin de abril). Para ambas especies se realizó riego para establecimiento hasta el inicio de las lluvias (julio).

Tanto los individuos de *B. linearis* como los de *O. picensis* debieron protegerse con malla metálica, dado que por las escasas precipitaciones, y por lo tanto la escasez de vegetación a inicios de la temporada invernal, los roedores que habitan el área (conejos y cururos, éstos endémicos en Chile) ramonearon las ramas de varios individuos, provocando su muerte y debiendo ser reemplazados.

- Aplicación del quelante

En base a los resultados del ensayo 3, se determinó aplicar 6 mmol/planta de Trilon M liquid, en dos dosis de 3 mmol/planta, en aplicaciones distanciadas por 4 semanas.

Al inicio del período reproductivo de *O. picensis* (mes octubre), se aplicaron los 3 mmol de Trilon/planta, disueltos en 200 mL de agua de riego. Después de un mes, se aplicó una segunda dosis de las mismas características. Dado el déficit de precipitaciones en el año del ensayo (65% en relación a un año normal, Salvo et al., 2012), entre ambas aplicaciones se realizó un riego de 200 mL/planta 2 veces a la semana, para evitar la mortalidad por falta de agua.

• Variables de medición directa

- Sobrevivencia por cuadrante
- Biomasa aérea
- Concentración de cobre en biomasa aérea
- Características edáficas al inicio y final del ensayo

• Variables de medición indirecta

- Extracción de cobre por individuo
- Extracción de cobre por unidad de superficie



- Determinación de biomasa, Cu en biomasa aérea y características edáficas al fin del ensayo

Un mes después de la última aplicación de Trilon, se cosecharon 3 plantas de *O. picensis* y 2 de *Baccharis linearis* en cada cuadrante. Dos meses después de la cosecha se tomaron muestras de suelo en cada cuadrante (muestras compuestas) para evaluar el efecto del quelante y el compost sobre las características del suelo. Se determinó luego Cu pseudototal, pCu<sup>+2</sup>, Cu intercambiable, pH, materia orgánica y NPK asimilables, siguiendo los métodos descritos en la sección 5.3.

Solo con fines prospectivos, en cada parcela de *B. linearis* se realizó una poda fuerte de dos individuos, con el fin de evaluar la variación de la extracción al realizar una poda vs la cosecha total del individuo cada dos años (proyectando que se aplicaría quelante cada año).

Una vez cosechadas, las plantas fueron llevadas a laboratorio, separadas por estructura, y lavadas con EDTA, siguiendo la secuencia: agua potable, HCl 0,1 M, agua desionizada, EDTA (0,05 M) y agua desionizada (dos enjuagues) (Ginocchio et al., 2002). Posteriormente las muestras fueron secadas a 60° por 48 horas en estufa. Luego de medir la biomasa de cada estructura vegetal en balanza analítica, estas fueron trituradas para la determinación de concentración de cobre en la biomasa aérea. El cobre total, para cada estructura vegetal, se analizó por absorción atómica luego de la calcinación de las muestras (Sadzawka et al., 2007). Para las muestras foliares se utilizaron dos muestras de referencia: 1570a (espinaca) y 1573a (tomate) del National Institute of Standards and Technology.

- Cálculo de la extracción de cobre por individuo y extracción de cobre por superficie/año

Una vez obtenidos los resultados de concentración de cobre por estructura y biomasa, se calculó la extracción de cobre en cada individuo en base a la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} & \text{Extracción de cobre por individuo} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{individuo}} \right] \\ &= \sum (\text{biomasa de cada estructura aérea [kg]} \\ & \quad * \text{conc. de Cu de cada estructura aérea [mg/kg]}) \end{aligned}$$

Luego, considerando el marco de plantación de cada especie, la sobrevivencia promedio de cada especie y tratamiento, y utilizando los promedios de extracción de cobre obtenidos por tratamiento, se calculó la extracción proyectada a un metro cuadrado, de cada tratamiento, según la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} & \text{Extracción proyectada por superficie} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{m}^2 \text{ año}} \right] \\ &= \text{extracción por individuo} \left[ \frac{\text{mg}}{\text{individuo}} \right] * \% \text{Sobrevivencia del cuadrante} \\ & \quad * \text{marco plantación} \left[ \frac{\text{individuos}}{\text{m}^2} \right] \end{aligned}$$

Para calcular la extracción por superficie por año, se consideró que para *O.*

*picensis*, la especie se cultiva solo durante un año antes de su cosecha, dado que es una especie de crecimiento anual, y de hábito perenne o sub-perenne. Al contrario *B. linearis* requiere al menos dos ciclos para llegar a un estado de desarrollo cercano al adulto, por lo tanto se debe cultivar al menos 2 años antes de su cosecha.

- Análisis estadísticos

Se realizó un análisis ANOVA para evaluar el efecto de los tratamientos sobre las variables edáficas:

- Cu intercambiable
- pH
- $pCu^{+2}$
- Materia orgánica
- F
- Fósforo asimilable
- Nitrógeno asimilable
- Potasio asimilable.

Se utilizó un  $\alpha=0,05$ . De haber diferencias significativas se realizó un test post-hoc de Tukey para identificar tratamientos iguales y diferentes entre sí.

Luego se analizó el efecto de los tratamientos sobre las variables respuesta (dependientes): biomasa, concentración de Cu y extracción de Cu. Debido las altas variaciones en las variables edáficas al inicio del ensayo, se esperaba no observar diferencias significativas entre tratamientos mediante un análisis ANOVA. Por esto, se optó por hacer un análisis indirecto mediante una regresión múltiple<sup>35</sup> relacionando las variables edáficas antes listadas, con las variables respuestas mencionadas.

Además de las variables edáficas antes listadas, también se agregó al modelo el Cu total, ya que influye significativamente a pesar de no estar influenciado por los tratamientos. Luego de determinar qué variables edáficas afectaban a las variables dependientes, se identificó (en base al análisis ANOVA anterior) qué tratamiento influía sobre dicha(s) variable(s) edáfica (s), pudiendo deducirse de este modo, qué tratamiento tiene incidencia sobre las variables dependientes medidas.

Previo al análisis por regresión se comprobaron los supuestos del error que permiten asegurar un análisis sin sesgo:

- los errores y las variables se distribuyen  $N(0, \sigma^2)$
- La varianza es homogénea
- Los errores son independientes entre sí
- Los errores son independientes del valor de las  $X_j$

Dado que el valor de las variables edáficas es único para cada cuadrante, para las variables dependientes se utilizaron los valores promedio de los tres individuos muestreados en cada unidad experimental, para el análisis por regresión.

Para los análisis se empleó el Software Minitab 15, utilizando, para la generación del modelo de regresión, la herramienta Stepwise, que permitió identificar que variables edáficas influyeron sobre la extracción en cada especie. Previo al stepwise se realizó un análisis de correlación entre las variables para eliminar aquellas que estuvieran fuertemente correlacionadas.

Con estos análisis se pudo determinar si hubo efecto de los tratamientos sobre la extracción de cobre en las especies y, si lo hubo, se pudo determinar cuál de los tratamientos fue más efectivo en el aumento de la extracción en cada una de las especie. Se concluyó de esta forma, para cada especie si es más conveniente

aplicar las estrategias de mejora antes seleccionadas por separado o en combinación para aumentar la extracción de Cu.

5.5.5. Determinación del número de ciclos necesarios para remediar a escala real un área de Los Maitenes, considerando las estrategias de mejoramiento de la extracción seleccionadas-Evaluación final de la hipótesis

- Objetivo asociado:

Determinar si la o la combinación de estrategia(s) seleccionada permitió la reducción del tiempo de remediación del suelo a un período menor a 10 años en alguna de las especies.

Es en esta actividad se determinó si fue posible rechazar o aceptar la hipótesis de investigación.

Se realizó un nuevo cálculo del rango de número de ciclos necesarios para remediar un suelo, considerando las extracciones promedio por superficie obtenidas en cada especie seleccionada, aplicando la o las estrategias de mejoramiento seleccionadas en el objetivo anterior. Para el cálculo de los ciclos se utilizó el rango de cantidades de Cu a remover del suelo en estudio (min.; media; máx.), obtenido de la metodología de la sección 5.5.2 (ver Tabla 16). Estos valores se ingresaron en la siguiente fórmula para calcular el rango de ciclos necesarios de cultivo de la especie seleccionada, para remediar un suelo, dependiendo de las concentraciones iniciales de Cu.

$$\begin{aligned} & \text{N}^\circ \text{ de ciclos necesarios para descontaminar una sup. suelo contaminado por Cu} \\ & = \frac{\text{mg de Cu a remover por m}^2}{\text{extracción promedio por m}^2} \end{aligned}$$

Como umbral, se determinó que el número de ciclos necesarios para la remediación del suelo no debiera superar los 10 años (tiempo sugerido y discutido con profesionales de CODELCO y varios investigadores como límite en el cual esperarían obtener resultados de una inversión de este tipo). El rango de ciclos de cultivo necesarios obtenidos se comparará con este umbral. Si este rango es menor o cercano al umbral se aceptará la hipótesis de investigación. Podría suceder que el número de ciclos necesarios para remediar un suelo fuese <10 años solo para suelos levemente contaminados. En este caso la hipótesis se acepta pero con la limitante de ser usada solo en suelos con concentraciones de Cu < xxx mg/kg lo cual debe ser explicitada al momento de desarrollar la metodología de remediación (5.5.7), ya que esta solo podrá dar solución a una parte del territorio contaminado.

De aceptarse total o parcialmente la hipótesis, se continuaría con la actividad 7. De lo contrario se rechazaría la hipótesis, argumentándose que no es posible, mediante las estrategias de mejoramiento conocidas y evaluadas, mejorar la fitoextracción de cobre en las especies seleccionadas, lo suficiente como para generar una metodología eficiente, para los propietarios, de fitoextracción para aplicar en el área de estudio.

5.5.6. Selección de la especie más eficiente en la extracción de cobre, una vez aplicadas las estrategias de mejoramiento seleccionadas

En el caso de aceptarse la hipótesis de investigación, en base a los resultados

anteriores se realizaría un análisis ANOVA comparando las extracciones de ambas especies, utilizando los datos de extracción por superficie, aplicando la/s estrategia/s de mejora seleccionadas. Así se concluiría cuál de las dos especies es más recomendable para procesos de fitoextracción a gran escala.

#### 5.5.7. Análisis de las implicancias técnicas de la fitoextracción de un área de suelos de Los Maitenes

- Objetivo asociado

Elaborar una guía de fitoextracción de cobre para las características específicas de los suelos de Puchuncaví y Quintero, considerando las implicancias técnicas y económicas de lo que aplicar la técnica a gran escala significa.

##### 5.5.7.1 Análisis de implicancias técnicas

De aceptarse total o parcialmente la hipótesis de la tesis y en base a las estrategias de mejoramiento y las especies seleccionadas, se realizaría un análisis de las implicancias técnicas de implementar la fitoextracción a gran escala en el área de estudio. Se determinarían en primer lugar las áreas donde sería factible y prioritario aplicar un proceso fitoextracción<sup>41</sup> para lo cual deberían involucrarse actores del ámbito político de distintos niveles territoriales (nacional, regional, comunal, vecinal) así como expertos en áreas sociales y en áreas técnicas asociadas a la evaluación de riesgos, a la salud, a la ecología, entre otros. Lo más apropiado sería desarrollar una zonificación de áreas prioritarias<sup>42</sup>, en base a la cual se planifique a largo plazo este proceso.

Posteriormente se deberían establecer las necesidades de materiales, de mano de obra, de profesionales capacitados, de insumos, de transporte, de equipos, de servicios externos, de infraestructura, etc.

También se deberán establecer los requerimientos legales, por ejemplo los permisos sectoriales que se debieran obtener.

Finalmente se debería asociar a cada requerimiento y por cada zona de prioridad establecida, un valor económico por unidad de superficie.

##### 5.5.7.2 Elaboración de la guía metodológica

Con todos los datos obtenidos en el apartado anterior, se procedería a generar la estructura metodológica para la aplicación de la técnica de fitoextracción a gran escala en el área de estudio. Esta estructura debería establecer las limitantes metodológicas propias de la técnica desarrollada (relacionadas a las especies o a los mejoramientos desarrollados) y de contexto (por ejemplo, el clima, el suelo, la topografía), así como los supuestos en los que se basan los resultados esperados.

Luego, se deberían definir las etapas del procedimiento a realizar, tareas, perfil de responsables, recursos físicos, logísticos y económicos requeridos para cada actividad y los resultados esperables de cada actividad y etapa. La metodología debería considerar variaciones en cada una de las zonas prioritarias definidas

---

<sup>41</sup> a priori, esta técnica sería adecuada para zonas rurales naturales. En zonas urbanas y en zonas rurales residenciales lo más probable es que se requeriría de otro tipo de técnica como técnicas de inmovilización o de excavación superficial ya que no sería posible implementar ciclos de cultivo en áreas de tránsito permanente. En zonas industriales probablemente no sería una prioridad política ya que se consideran zonas de sacrificio.

<sup>42</sup> Esta zonificación debería considerar el nivel de contaminación, así como a la categoría de rural o urbano del área, el uso del suelo según el Plan Regulador, variables físicas de alta permanencia como la topografía o altitud, disponibilidad de fuentes agua, cobertura actual, entre otras

anteriormente, en base a sus características.

## 5.6. Bibliografía específica

APHA (American Public Health Association) (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington, USA, APHA.

BASF. (2007). Data sheet: Trilon M Líquido. Ludwigshafen, Germany. Disponible:  
[http://worldaccount.basf.com/wa/NAFTA/Catalog/ChemicalsNAFTA/doc4/BASF/PRD/30043459/.pdf?urn=urn:documentum:ProductBase\\_EU:09007af8803fd811.pdf](http://worldaccount.basf.com/wa/NAFTA/Catalog/ChemicalsNAFTA/doc4/BASF/PRD/30043459/.pdf?urn=urn:documentum:ProductBase_EU:09007af8803fd811.pdf)  
[2015, 2 de agosto].

Blake, G. R. & Hartge, K. H. (1986). Bulk density. In: A. Klute (Ed), Methods of soil analysis. Part I: Physical and Mineralogical Methods. Agronomy Monograph N°9 (pp. 363-375). Madison, Wisconsin. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America.

Bosch, C. (2007). *Argemone mexicana* L. In: G. Schmelzer & Gurib-Fakim, A. (Ed), Prota 11: Medicinal plants Wageningen, Netherlands.

Carbonell-Barrachina, A., Aarabi, M., DeLaune, R., Gambrell, R. & Patrick, W. (1998). The arsenic chemical form and concentration on *Spartina patens* and *Spartina alterniflora* growth and tissue arsenic concentration. Plant and Soil, 198, 33-43.

Chileflora. (2008). Descripción e imágenes de *Argemone subfusiformis*. Chileflora. Disponible:  
<http://www.chileflora.com/Florachilena/FloraSpanish/HighResPages/SH0863.htm>  
[2008, 28 de diciembre].

Chileflora. (2008b). Descripción e imágenes de *Baccharis linearis*. Chileflora. Disponible:  
<http://www.chileflora.com/Florachilena/FloraSpanish/HighResPages/SH0863.htm>  
[2008, 28 de diciembre].

Dietrich, W. (1977). The South American species of *Oenothera* sect. *Oenothera* (*Raimannia*, 471 *Renneria*; *Onagraceae*). Annals of the Missouri Botanical Garden, 64, 425-626.

Ginocchio, R., Rodríguez, P., Badilla-Ohlbaum, R., Allen, H., & Lagos, G. (2002). Effect of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions. Environmental Toxicology and Chemistry, 21, 1736-1744.

González, I., Muena, V., Cisternas, M., & Neaman, A. (2008). Acumulación de cobre en una comunidad vegetal afectada por contaminación minera en el valle de Puchuncaví, Chile central. Revista Chilena de Historia Natural, 81, 279-291.

Hauser, L. (2003). Extraction of Zinc, Copper and Lead from Polluted Soils by [S,S]-Ethylenediamine Disuccinic Acid. Diploma. Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Zurich, Suiza.

Junta de Extremadura. (1992). Interpretación de análisis de suelo, foliar y

agua de riego. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa.

León-Lobos, P., Ginocchio, R. & Baker, A. (2011). Fitoestabilización de Depósitos de Relaves en Chile. Santiago, Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, CIMM; Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIA; INNOVA CORFO: 62 pp.

Matthei, J. (1995). Manual de las malezas que crecen en Chile. Santiago: Alfabeto Impresores.

Muena, V., González, I. & Neaman, A. (2010). Efectos del encalado y la fertilización nitrogenada sobre el desarrollo de *Oenothera affinis* en un suelo afectado por la minería del cobre. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(2), 102-114.

Neaman, A., Reyes, L., Trolard, F., Bourrié, G. & Sauvé, S. (2009). Copper mobility in contaminated soils of the Puchuncaví valley, central Chile. *Geoderma*, 150(3-4), 359-366.

Peña, R. (2002). El género *Argemone* (Papaveraceae) en Chile. *Chloris Chilensis*, 5.

PGS Chile. (2015). Muestreo de suelos para las comunas de Quintero y Puchuncaví, región de Valparaíso. Santiago, Chile. Ministerio de Medio Ambiente. 128 pp.

Puschenrieter, M., Tesar, M., Horak, O., & Wenzel, W. (2001). Rhizosphere manipulation using EDTA to enhance phytoextraction. In: D. S. Powlsen (Ed.), *Proceedings of International Conference on Interactions in the roots environment- An Integrated APPROACH 10-12*. Rothamsted, United Kingdom.

Rachou, J., Gagnon, C. & Sauvé, S. (2007). Use of an ion selective electrode for free copper measurements in low salinity and low ionic strength matrices. *Environmental Chemistry*, 4(2), 90-97.

Sadzawka, A. (1990). *Métodos de análisis de suelos*. Santiago, Chile, Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 132 pp.

Sadzawka, A., M. Carrasco, R. Grez, M. Mora, H. Flores, y A. Neaman. (2006). *Métodos de Análisis Recomendados para los Suelos de Chile*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Santiago, Chile.

Sadzawka, A., Carrasco, M. A., Demanet, R., Flores, H., Grez, R., Mora, M. I. L., & Neaman, A. (2007). *Métodos de análisis de tejidos vegetales*. Santiago, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias.

Salvo, J., Cecenque, R., Muñoz, L., Maldonado, I., Ruiz, R. & Fuentes, M. (2012). Informe Agrometeorológico Nacional para el Ministerio de Agricultura y de Análisis de Posibles Riesgos Agroclimáticos en las Principales Especies Frutales y Cultivos, Instituto de Investigaciones Agropecuarias: 14 pp.

Sheldrich, B. & Wang, C. (1993). Particle size distribution. In: M. Carter (Ed), *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Canadian Society of Soil Science. (pp. 499-511). Boca Raton, Florida, Lewis Publishers.

Stuckey, J., Neaman, A., Ravella, R., Komarneni, S. & Martínez, C. E. (2008).

Highly charged swelling mica reduces free and extractable Cu levels in Cu-contaminated soils. *Environmental Science & Technology*, 42, 9197-9202.

Ulriksen, C., Ginocchio, R., Mench, M. & Neaman, A. (2012). Lime and compost promote plant re-colonization of metal polluted, acidic soils. *International Journal of Phytoremediation*, 14, 820-833.

Van Nevel, L., Mertens, J., Oorts, K. & Verheyen, K. (2007). Phytoextraction of metals from soils: How far from practice? *Environmental Pollution*, 150(1), 34-40.

Verlinden, M. (1982). On the acid decomposition of human blood and plasma for the determination of selenium. *Talanta*, 29, 875-882.

Vidal, J., Carbajal, A., Sisniegas, M. & Bobadilla, M. (2009). Efecto tóxico de *Argemone subfusiformis* Ownb. y *Tagetes patula* Link. sobre larvas de IV estadio y pupas de *Aedes aegypti* L. *Revista Peruana de Biología*, 15(2), 103-109.

**CAPITULO VI**  
**RESULTADOS**





En este capítulo se entregan los resultados de la aplicación de la metodología descrita en el capítulo V. Se describen en forma sucesiva los resultados asociados a cada uno de los objetivos planteados para la investigación.

## **6.1. Problemas de funcionalidad metodológica**

### 6.1.1. Problemas técnicos de procedimiento

La metodología planteada en el capítulo IV considera un flujo de la investigación basado en 3 especies vegetales. Sin embargo, ya en los inicios de la investigación (sección 5.5.2), se debió descartar una de las tres especies, *Argemone subfusiformis*, ya que presentó problemas de propagación y desarrollo. En consecuencia, la investigación se redujo a dos especies, por lo que los diseños experimentales debieron ser readecuados, lo que se especificará en los capítulos correspondientes a cada una de las etapas de la investigación.

Para el ensayo 3 (sección 5.5.3.3.), no fue posible realizar los ensayos para *B. linearis*, debido a que por tiempo se debería haber hecho en forma paralela al ensayo con *O. Picensis*; sin embargo, no se contaba con más material para realizar dos ensayos paralelos (columnas de PVC y rizhones, tenían un costo elevado). Esto influyó en los resultados, ya que se extrapolaron los resultados obtenidos en este ensayo para *O. picensis* a la especie *B. linearis*, para determinar los tratamientos a probar en los ensayos en terreno. Posteriormente se comprobó que esta decisión no fue efectiva ya que *B. linearis* no respondió a los tratamientos seleccionados para *O. picensis*.

En el ensayo final (descrito en 5.5.4), se evaluó la combinación de las estrategias más eficientes seleccionadas en la primera etapa de ensayos, que fueron la adición de quelantes y de la materia orgánica. Como fuente de materia orgánica se utilizó el compost proveniente de una fábrica de champiñones (ubicada en Quintero). Antes de comenzar el ensayo (6 meses antes) se habían obtenido muestras de este compost para su evaluación, las cuales indicaban un pH neutro. Sin embargo, luego de aplicar el compost a los tratamientos correspondientes, al realizarse análisis de suelos, se observó un aumento del pH. Al volverse a realizar análisis del compost aplicado, se corroboró que este tenía un pH ligeramente alcalino (7,69). Esto sugirió que se agregó algún agente neutralizante al compost (probablemente cal), durante su proceso de compostaje, sin informar a los compradores. Esta alcalinidad influyó en los resultados, ya que el compost tuvo un efecto neutralizador de la acidez del suelo, similar al encalado.

### 6.1.2. Problemas relacionados a las condiciones del entorno

Un problema que incidió significativamente en los resultados fue la escasez hídrica. Mientras el año 2008 hubo un superávit de precipitaciones (415 mm) en los 3 años posteriores de experimentación hubo un déficit hídrico severo (precipitando 190-150 en comparación a los 290 considerados normales) que provocó bajas

sobrevivencias y producciones de biomasa, principalmente en *O. picensis*.

Un problema recurrente en los ensayos en terreno fue el ramoneo y arranque de los individuos cultivados por parte de conejos o cururos, mamíferos muy abundantes en el área de estudio. En el ensayo 1 (sección 5.5.3.1) esto provocó, en *Baccharis linearis*, la pérdida total de unidades experimentales en dos de los tratamientos (cal + fertilizantes y fertilizantes) y la pérdida parcial en los otros tratamientos, lo que implicó que no se pudiese realizar el análisis estadístico y no se pudiesen obtener conclusiones válidas para esta especie, debiéndose extrapolar los resultados obtenidos para *O. picensis*, a *B. linearis*, para el ensayo final. En los siguientes ensayos se utilizó malla perimetral de mejor calidad para el cierre. Sin embargo, aun así los roedores cavaron bajo la malla, por lo que en el ensayo final se debió poner malla hexagonal alrededor de cada individuo de *B. linearis* e incluso de *O. Picensis*, al notar que los roedores también podían consumir esta especie.

## 6.2. Selección de técnica de biorremediación a utilizar

La información acerca de las distintas técnicas de biorremediación de metales en el suelo se clasificó y sistematizó en el capítulo I de esta tesis. Luego del análisis profundo de las técnicas en la Tabla 4 se resumieron las ventajas y desventajas de cada una de ellas, seleccionándose la técnica de fitoextracción para la remediación del área en estudio, por su facilidad de implementación en relación a la biorremediación microbiana y por sus ventajas en relación a la fitoestabilización por el hecho de extraer los contaminantes y la posibilidad de darle usos posteriores al suelo. La recopilación de información permitió además seleccionar las estrategias de mejoramiento a utilizar y sus especificaciones técnicas, que se evaluaron a lo largo de esta tesis.

## 6.3. Determinación de los valores objetivo de remediación en base a valores background de Cu disponible

El valor background para Cu disponible se calculó en 1,03 mg/kg (Tabla 11). Este valor se usará como valor objetivo (“target value”) para la remediación de los suelos en estudio.

**Tabla 11. Descriptivos de los valores background encontrados para Cu disponible**

	Cu soluble	Cu intercambiable	Cu biodisponible
N	38	38	38
Max	2,44	3,00	5,44
Min	0,05	0,07	0,14
Media	0,34	0,41	0,75
Desviación estándar	0,396	0,555	0,910
intervalo de confianza	0,126	0,176	0,289
Límite superior intervalo (UCL 95%)	0,46	0,58	<b>1,03</b>

El Cu biodisponible se define como la suma del Cu soluble + intercambiable  
Fuente: elaboración propia

## 6.4. Características físico-químicas de los suelos en los sitios de muestreo y ubicación de ensayos

Los suelos de los tres sitios de experimentación y muestreo (Figura 55 A, B y

C) presentaron altas concentraciones de cobre total en la primera estrata de suelo (Tabla 12 a Tabla 14), comparado a un suelo alejado de la Fundición (68 mg/kg en los primeros 15 cm de suelos según estudio de concentraciones background) (PGS, 2015). En el sitio A, donde el muestreo se realizó por estratas, se pudo observar que la contaminación cúprica reside en los primeros 15 cm de suelo, concentrándose con mayor intensidad en los primeros 5 cm de suelo, siendo las concentraciones de Cu en la tercera capa cercanas al valor background ( $130 \pm 95$  mg/kg).

El pH del suelo en los sitios de experimentación y muestreo fluctuó, en los primeros 15 cm, entre 3,7 y 6,5 (Tabla 12 a 14), es decir entre “extremadamente ácido” y “ligeramente ácido” (según clasificación de Fassbender, 1987). En el suelo A se observó que el pH se vuelve más alcalino en las estratas más profundas.

La concentración de cobre intercambiable en las primeras estratas de los sitios B y C (Tabla 13 y Tabla 14) y en la primer y segunda estrata del sitio A (Tabla 12) fueron altas, en comparación con el valor establecido como background (0,58 mg/kg, ver Tabla 11). En el sitio A, donde se muestreó por estratas, se observó una disminución de la concentración de Cu intercambiable con la profundidad.

La concentración de Cu soluble en el sitio A, B y C (Tabla 12 a Tabla 14) , fue alto en la primera estrata y también en la segunda estrata el sitio A, en comparación a las concentración determinada como background (0,46 mg/kg, ver Tabla 11).

En consecuencia de los valores de Cu intercambiable y soluble, los valores para el Cu disponible (suma de los anteriores) fueron también elevados en las primeras estratas de los tres sitios, en comparación al valor establecido como background (1,03 mg/kg, ver Tabla 11).

El  $pCu^{+2}$  ( $-\log [Cu \text{ libre}]$ ) en los 15 primeros cm de los suelos de los sitios B y C (Tabla 13 y Tabla 14) y en las dos primeras estratas del suelo del sitio A (Tabla 12) fueron bajos en comparación a suelos alejados de actividad minera ( $8,0 \pm 0,56$  en los primeros 20 cm de profundidad en suelos de Maitencillo<sup>43</sup>) (Muena et al., 2010). Esto indica que presentaban una mayor actividad del ion Cu libre.

Los tres suelos presentan concentraciones disponibles de fósforo y potasio en rangos normales y una leve deficiencia de nitrógeno (clasificación según Ruiz 2001 y Rodríguez, 1992).

El porcentaje de materia orgánica en los suelos es bajo o muy bajo en los tres sitios (según clasificación de Fassbender, 1987); sin embargo, son similares a suelos no contaminados de la zona costera de la región ( $2,1 \pm 0,43$  en Maitencillo) (Muena, et al., 2010).

---

<sup>43</sup> No se determinó este parámetro en el estudio de valores background

**Tabla 12. Características físico-químicas de los suelos de la parcela experimental ubicada en el sitio A, propiedad de CODELCO, camino a la localidad de Los Maitenes.**

Variable	0-5 cm		5-15 cm		15-30 cm	
	Promedio	Rango	Promedio	Rango	Promedio	Rango
Cu total (mg/kg)	678±574	134-1780	210±169	31-670	130±95	29-382
Cu soluble (mg/L)	13±7,9	0,7-27	0,64±0,48	0,11-1,5	0,74±1,0	0,14-29
pH (KNO <sub>3</sub> )	4,5±0,2	4,2-5,2	5,4±0,32	4,5-5,9	5,6±0,16	5,3-5,9
Cu intercambiable (mg/kg)	84±43	2,2-148	4,7±8,7	0,06-34	0,75±1,0	0,01-3,7
Cu disponible (Cu soluble + Cu intercambiable)	97±49	3,0-163	5,4±9,0	0,23-33	4,4±8,0	33±0,6
pCu <sup>+2</sup>	3,8±0,5	3,4-5,3	6,4±0,97	4,8-7,9	6,9±0,60	5,9-8,0
N disponible (mg/kg)	19±7,7	4,3-33	7,8±5,1	1,7-17	4,5±3,4	0,7-9,5
P disponible (mg/kg)	33±4,0	24-41	30±2,6	24-33	31±2,3	28-34

Fuente: elaboración propia

**Tabla 13. Características físico-químicas de los suelos de la parcela experimental ubicada en el sitio B, en una propiedad agrícola en la localidad de Los Maitenes.**

Variable	Promedio	Rango
Cu total (mg/kg)	487±137	242-939
pH (KNO <sub>3</sub> )	5±0,8	4,1-6,5
Cu intercambiable (mg/kg)	23±20	0,2-62
Cu soluble (mg/kg)	13±7,0	3,6-29
Cu disponible (Cu intercambiable + Cu soluble, mg/kg)	37±26	6,2-88
pCu <sup>+2</sup>	6,3±1,3	4,4-8,5
N disponible (mg/kg)	27±12	8,00-56
P disponible (mg/kg)	37±12	26,1-68
K disponible (mg/kg)	169±57	91,1-302
Materia orgánica (%)	1,9 ±1,0	0,6-4,5
Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> )	1,50±0,20	1,49-1,52
Textura	Franco-arenosa	

Se indican las medias, desviación estándar y el rango de valores para cada parámetro. Todos los datos corresponden a la primera estrata de suelo (0-15 cm). Las medias corresponden al promedio de 50 muestras.

Fuente: elaboración propia

**Tabla 14. Características físico-químicas de los suelos del sitio C, área municipal, camino a Los Maitenes, donde se tomaron muestras de especies vegetales y se colectó suelo.**

Variable	Promedio	Rango
Cu total (mg/kg)	511±263	111-1045
pH	4,1±0,5	3,7-5,7
Cu intercambiable (mg/kg)	30±23	5,0-87
Cu soluble (mg/kg)	15±11	1,2-39
Cu disponible (Cu intercambiable + Cu soluble, mg/kg)	44±34	6,3-125
pCu <sup>+2</sup>	5,9±1,2	4,38-8,48
Materia orgánica (%)	1,3 ±0,8	0,6-3,4
Textura	Franco-arenosa	

Se indican las medias, desviación estándar y el rango de valores para cada parámetro. Todos los datos corresponden a la primera estrata de suelo (0-15 cm). Las medias corresponden al promedio de 26 muestras.  
Fuente: elaboración propia

Considerando la totalidad de las mediciones en las tres áreas de estudio el promedio de Cu disponible es de 49±45 mg/kg, con una mínima de 3 mg/kg, una máxima de 163 mg/kg y una mediana de 48 mg/kg. Estos valores fueron usados para la determinación del número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una superficie de suelo contaminado en el área de estudio.

## 6.5. Ensayo inicial: Número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una superficie de suelo contaminado en el área de estudio

### 6.5.1. Sobrevivencia de la especies

- *Argemone subfusiformis*

Luego de dos años de cultivo (2008-2009), la especie *A. subfusiformis* no prosperó (Figura 73). Luego de su trasplante, los individuos mantuvieron siempre un tamaño similar al del momento del trasplante, presentaron clorosis y eventualmente murieron. Se intentó un replante por siembra directa en el segundo ciclo; sin embargo, no dio resultado. En consecuencia, la especie fue descartada para futuros ensayos, dada su dificultad de propagación.



**Figura 73. Comparación del desarrollo de *A. subfusiformis* al momento del trasplante (izquierda) vs el desarrollo luego de 6 meses de cultivo (derecha)**

Se observa el casi nulo desarrollo de biomasa del individuo respecto al momento del trasplante y también la presencia de clorosis.  
Fuente: elaboración propia

- *Baccharis linearis*

En cuanto a *B. linearis*, la sobrevivencia al primer ciclo de cultivo fue de un 100%; sin embargo, en el 2° año de cultivo, dado el deterioro de los materiales con

los cuales fue construido el cerco, algunos herbívoros (mamíferos) lograron traspasarlo y ramonearon a algunos individuos, ya que gustan de los brotes tiernos de las especies de *Baccharis* (Tabla 15). En consecuencia, solo el 50% de los individuos sobrevivió el 2° año. Este factor externo no se consideró en el valor de la sobrevivencia, ya que no fue efecto de las condiciones ambientales.

- *Oenothera picensis*

Para *O. picensis*, la sobrevivencia al primer año de cultivo fue de un 73% (2008) y luego del 2° año de 28,3% (2009). El promedio de la sobrevivencia de ambos años fue de  $55,6 \pm 30,1\%$  (Tabla 15).

#### 6.5.2. Producción de biomasa de las especies

- *Oenothera picensis*

La biomasa producida por *Oenothera picensis* el primer año fue de  $21 \pm 6,8$  g/planta, mientras que en el segundo año la biomasa producida disminuyó a  $16 \pm 7,5$  g/planta (Tabla 15).

- *Baccharis linearis*

Para *Baccharis linearis*, solo se obtuvo biomasa el año 2 ya que se esperó a que los individuos presentaran un crecimiento cercano al adulto, para cosecharla completamente. El año 2 la producción de biomasa fue de  $126 \pm 66$  g/planta.

#### 6.5.3. Concentración de cobre en la biomasa aérea de las especies

La concentración de cobre en la biomasa aérea de *O. Picensis* y *B. linearis* (Tabla 15) fue mayor a lo normal en una planta común que crece en un suelo no contaminado (20 mg/kg, Stevenson, 1986); sin embargo, en ningún caso, las especies en condiciones naturales, alcanzaron concentraciones que permitieran calificarlas como “hiperacumuladoras” (1000 mg/kg para Cu, Baker & Brooks, 1989). Además, las concentraciones fueron considerablemente menores a las concentraciones promedio reportadas por la autora al muestrear las mismas especies, creciendo en condiciones naturales, de 614 y 314 para *O. Picensis* y *B. linearis*, respectivamente<sup>44</sup> (González et al., 2008).

Cabe mencionar que, en el año 2, la concentración de cobre en la biomasa aérea de *O. picensis* fue aproximadamente un 50% más baja que el primer año. La concentración de cobre en la biomasa aérea de *B. linearis*, de  $60 \pm 12$  mg/kg, se obtuvo después de dos años de cultivo de los individuos en la parcela (el primer año no se muestreó esta especie (Tabla 15).

#### 6.5.4. Extracción de cobre por especie, por ciclo

La extracción promedio de cobre por individuo en *O. picensis* fue de  $2,6 \pm 3,1$  mg/planta el primer año, disminuyendo a  $0,5 \pm 0,28$  mg/planta en segundo año (Tabla 15), con un promedio de ambos años de  $1,6 \pm 2,1$  mg/planta. La extracción de Cu por individuo para *B. linearis* luego de los dos años de cultivo fue de  $7,5 \pm 2,9$  mg/planta. Al dividirse en los dos años de cultivo, para obtener un valor de extracción anual, es de  $3,5 \pm 2,6$  mg/kg.

---

<sup>44</sup> Cabe mencionar que dichos individuos tenían varios años de crecimiento (en el caso de *O. picensis* la especie es hemicriptófito por lo que los individuos muestreados habían conservado sus estructuras subterráneas renovando las estructuras aéreas)

### 6.5.5. Extracción de cobre por unidad de superficie, para cada especie

En cuanto a la extracción proyectada por metro cuadrado (Tabla 15) la extracción/m<sup>2</sup> de *O. picensis*, en el primer ciclo (año 2008), fue 7 veces mayor que en el 2° ciclo (año 2009), debido directamente a que la sobrevivencia y la extracción fueron mayores en el primer ciclo. La extracción por superficie promedio de ambos años fue de 11±21 mg/m<sup>2</sup>/año.

La extracción proyectada/m<sup>2</sup> para *B. linearis*, después de dos años de cultivo, fue de 11±4,6 mg/m<sup>2</sup> (Tabla 15). Al calcular la extracción por superficie anual en *B. linearis*, dividiendo el valor obtenido el segundo año por dos se obtuvo una extracción anual de 5,5±2,3 mg/m<sup>2</sup>, valor menor al promedio anual en *O. picensis*.

**Tabla 15. Sobrevivencia, producción de biomasa, extracción de cobre por ciclo de cultivo y por metro cuadrado, para *B. linearis* y *O. picensis* luego de dos ciclos de cultivo.**

Especie	Sobrevivencia (%)	Concentración de Cu foliar (mg/kg)	Biomasa /planta (g)	Extracción por planta (mg/planta)	Extracción proyectada por metro cuadrado (mg/m <sup>2</sup> )
<b>Ciclo 1-2008</b>					
<i>B. linearis</i>	100	n.m	n.m	n.m	n.m
<i>O. picensis</i>	73	95±59	21±6,8	3,1±2,7	28±30
<b>Ciclo 2-2009</b>					
<i>B. linearis</i>	100*	60±12	105±74	7,5±2,9	11±4,6
<i>O. picensis</i>	28	45±21	16±7,5	0,50±0,27	1,7±1,5
<b>Valor promedio por año</b>					
<i>B. linearis</i>	100*	60±12	52±37	3,5±2,6	5,5±2,3
<i>O. picensis</i>	56±30	83±64	18±17	1,6±2,1	11±21

Se indican las medias y desviaciones estándar para cada variable.  
n.m=no se realizó cosecha de la especie.

\*No se consideró la pérdida por ramoneo para los cálculos, ya que esta es evitable  
Fuente: elaboración propia

### 6.5.6. Masa de cobre a remover por metro cuadrado para remediar los suelos en estudio

La masa de cobre a remover, para alcanzar las concentraciones objetivo definidas en la sección 6.2, estuvo en el rango entre 0,55 a 32 g/m<sup>2</sup>, dependiendo de la concentración inicial de Cu disponible en el suelo (Tabla 16).

**Tabla 16. Masa de cobre a remover por metro cuadrado de suelo del área de estudio, para alcanzar concentraciones objetivo**

Concentración inicial de cobre	Masa de Cu a remover para
--------------------------------	---------------------------



disponible en el suelo (mg/kg)	alcanzar concentraciones objetivo (g/m <sup>2</sup> )
3	0,55
48	11
143	32

Las concentraciones objetivo ("target values") se definieron en la sección 6.3  
Fuente: elaboración propia

#### 6.5.7. Número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una unidad de superficie

La estimación del número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una superficie de suelo del área de estudio arrojó valores elevados para ambas especies. A excepción del escenario más optimista (con menor contaminación), en los otros escenarios el número de ciclos necesarios para alcanzar el valor objetivo están en el orden de milenios para ambas especies (Tabla 17), lo que claramente está muy por encima del límite de 10 años establecido en esta tesis, como período factible de remediación de un suelo en un escenario real.

**Tabla 17. Número de ciclos vegetales (años) necesarios para remediar los suelos del área de estudio, utilizando *B. linearis* y *O. picensis*, sin ningún mejoramiento.**

Especie	N° de ciclos necesarios para remediar una unidad de superficie		
	Conc. Inicial de Cu disponible: 3 mg/kg	concentración inicial de Cu disponible: 48 mg/kg	concentración inicial de Cu disponible: 143 mg/kg
<i>Baccharis linearis</i>	99 (74-188)	1.940 (1.442-3.680)	5.830 (4.330-11.050)
<i>Oenothera picensis</i>	50(9-2.269)	970 (172-44.460)	2.913 (517-133.520)

Se indica el valor obtenido en base a la media de extracción y el rango de valores, en base a la máxima y a la mínima extracción de Cu cada especie  
Fuente: elaboración propia

### 6.6. Efecto de las estrategias de mejoramiento en la extracción de cobre en *Oenothera picensis* y *Baccharis linearis*

6.6.1. Ensayo 1: Efecto de la aplicación de enmiendas agrícolas sobre la extracción de Cu en las especies estudiadas.

#### 6.6.1.1. Efecto de las enmiendas en los suelos

Luego de la aplicación de las enmiendas, el pH en las sub-parcelas en tratamiento con encalado Ca(OH)<sub>2</sub> y Ca(OH)<sub>2</sub> + NPK fue significativamente más alto al pH de los otros tratamientos, alcanzando la neutralidad (Tabla 18, p<0,015). Asimismo, el Cu intercambiable, dependiente del pH, disminuyó significativamente en estos tratamientos (p<0,05). El pCu<sup>+2</sup> aumentó significativamente en los tratamientos encalados (p<0,05), lo que significa que la actividad del ion Cu<sup>+2</sup> disminuyó.

Con la aplicación de fertilizantes en los tratamientos NPK y Ca(OH)<sub>2</sub>+NPK, la concentración de nitrógeno disponible en el suelo aumentó significativamente (p<0,05) en relación al control. No sucedió lo mismo con el fósforo y el potasio disponibles, para los cuales no hubo diferencias significativas luego de la aplicación de las enmiendas.

**Tabla 18. Efecto de la aplicación de enmiendas (cal y fertilizantes) sobre las características físico-química de los suelos de la parcela experimental.**

Variable	Control	Ca(OH) <sub>2</sub>	NPK	Ca(OH) <sub>2</sub> + NPK
pH	6,2±1,4 a	7,5±0,3 b	5,0±0,6 a	7,5±0,2 b
Cu intercambiable (mg/kg)	23±20 a	1,7±1,0 b	16±10 a	2,2±1,1 b
pCu <sup>+2</sup>	5,9±1,2 a	8,0±1,0b	6.3±1,5a	8.3±1,0b
N disponible (mg/kg)	27±123 a	36±16 a	142±109 b	86±72b
P disponible (mg/kg)	58±39 a	48±21 a	70±50 a	76±48 a
K disponible (mg/kg)	234±97 a	150±58 a	280±290a	350±290a

Se indican medias y desviaciones estándar de las variables relacionadas a los tratamientos aplicados. Letras diferentes en una misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos (Test de Tukey  $\alpha=0,05$ ).

Fuente: elaboración propia

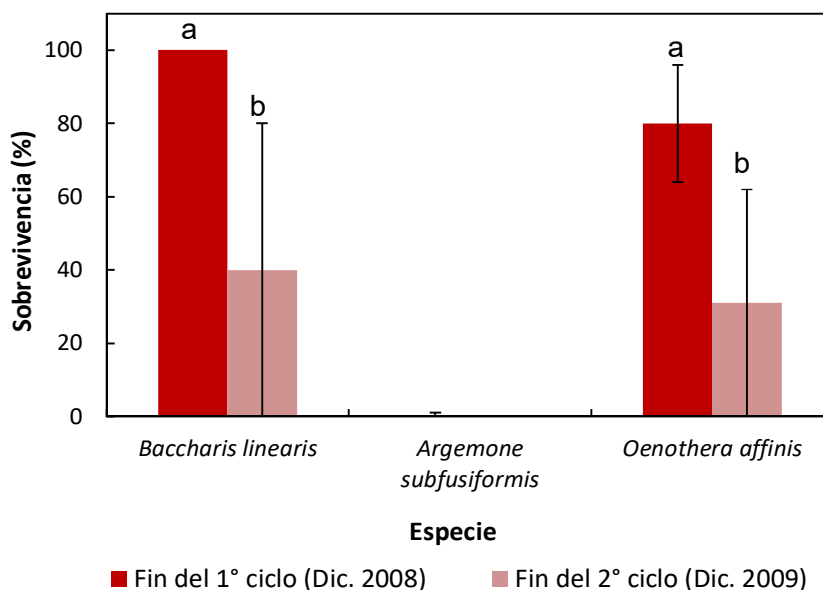
#### 6.6.1.2. Efecto de las enmiendas en la sobrevivencia

La sobrevivencia promedio de *A. subfusiformis* fue casi nula alcanzando solo un 0,3% de sobrevivencia (considerando todos los tratamientos), observándose un muy escaso desarrollo de los individuos sobrevivientes, lo que produjo su muerte durante el período estival. En consecuencia, la especie fue descartada para futuros ensayos.

Para *O. picensis*, luego del primer año de cultivo, la sobrevivencia promedio considerando todos los tratamientos alcanzó un 79,4±16,8%, mientras que al segundo año disminuyó a un 39,1±19,8%

Para *Baccharis linearis*, la sobrevivencia promedio fue del 100% el primer año, existiendo una pérdida por ramoneo, del 60% en el segundo año, que hizo que los tratamientos fertilizantes y cal + fertilizantes quedasen sin individuos (sobrevivencia 0) y se perdiesen algunos individuos de los otros tratamientos (Gráfico 3). Esto hizo que hubiese diferencias significativas en la sobrevivencia entre ambos años de cultivo ( $p=0,019$ ). Cabe mencionar que esta pérdida no se consideró en los futuros cálculos de extracción por superficie dado que es una variable que se puede controlar.

No hubo efecto de las variables edáficas dependientes o no dependientes de los tratamientos, sobre la sobrevivencia de las especies vegetales estudiadas.



**Gráfico 3. Supervivencia de las especies estudiadas luego del primer y segundo ciclo de cultivo.**

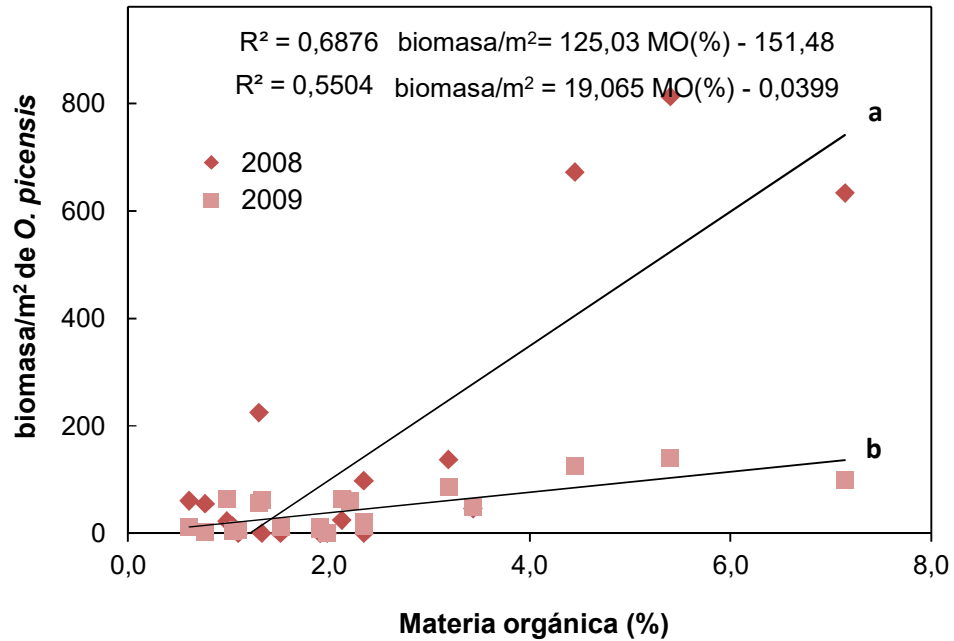
Letras diferentes indican diferencias significativas en la supervivencia de *O. picensis* entre los años 2008 y 2009 ( $\alpha < 0,05$ ).  
Fuente: elaboraci3n propia

#### 6.6.1.3. Efecto de las enmiendas en la producci3n de biomasa

Para *O. picensis*, se obtuvo una biomasa promedio anual por individuo de  $16 \pm 20$  g. El an3lisis de varianza no arroj3 diferencias entre tratamientos, ni entre los dos aros de evaluaci3n para esta variable ( $p > 0,05$ ). El an3lisis por regresi3n indic3 que no hubo efecto de las variables ed3ficas del suelo sobre la producci3n de biomasa ( $p > 0,05$ ).

Por otro lado, la producci3n de biomasa por superficie ( $\text{g}/\text{m}^2$ ) para *O. picensis* fue de  $177 \pm 239$   $\text{g}/\text{m}^2$  el 2008 y  $44,8 \pm 42,9$   $\text{g}/\text{m}^2$  el 2009, existiendo diferencias significativas entre aros de cultivo ( $p = 0,019$ ). No hubo efecto de las variables ed3ficas dependientes de los tratamientos (pH, Cu soluble, Cu intercambiable, Cu libre, N, P, K), sobre la producci3n de biomasa por superficie en *O. picensis* (an3lisis por regresi3n). Por otro lado, la materia org3nica, que aunque no dependa de los tratamientos tambi3n se incluy3 en el an3lisis de regresi3n (al igual que el Cu total), s3 influy3 sobre la producci3n de biomasa por superficie (Gr3fico 4). Ambas variables estuvieron relacionadas linealmente ( $p = 0,016$  y  $R^2 = 0,72$  el 2008 y  $p = 0,000$  y  $R^2 = 0,56$  el 2009). Un aumento en la materia org3nica del suelo se asoci3 a un aumento en la biomasa producida por metro cuadrado.

Para *B. linearis* la biomasa a3rea se cosech3 al final del segundo aro solamente, siendo la biomasa promedio de la especie de  $105 \pm 74,6$  g/planta y la biomasa por superficie de  $164 \pm 116$   $\text{g}/\text{m}^2$ . No fue posible, para esta especie, realizar an3lisis estadisticos por ANOVA o regresi3n, debido a la p3rdida de gran parte de los individuos, por ramoneo de roedores, lo que dejaba muy pocos datos para realizar an3lisis estadisticos (ver 6.5.1.2).



**Gráfico 4. Efecto de la materia orgánica sobre la producción de biomasa por superficie ( $\text{g}/\text{m}^2$ ), en *O. picensis*.**

Se muestra el valor de  $R^2$  y las ecuaciones de regresión para cada año. Letras diferentes en cada recta indican diferencias significativas en los promedios de cada año.

Fuente: elaboración propia

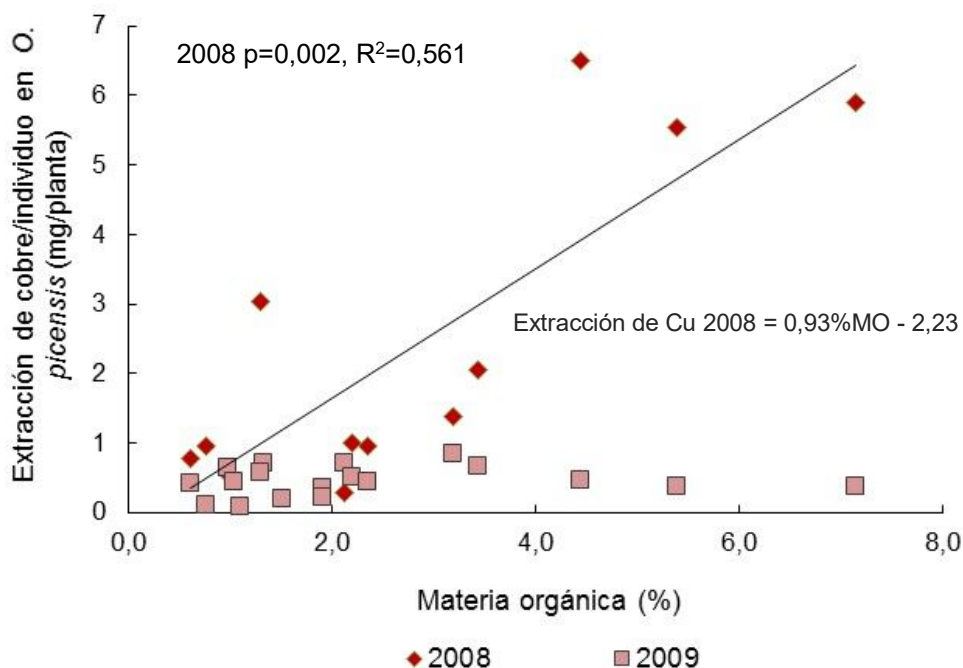
#### 6.6.1.4. Efecto de las enmiendas en la concentración de cobre en biomasa aérea

Para *O. picensis*, se obtuvo una concentración de cobre en la biomasa aérea de 126 mg/kg en promedio el primer año y 50 mg/kg el segundo año, siendo ambos años estadísticamente diferentes ( $p=0,000$ ). No hubo efecto de los tratamientos sobre la concentración de Cu en la biomasa aérea (según ANOVA). Según el análisis por regresión tampoco hubo relación de la concentración de Cu en la biomasa aérea con las variables edáficas del suelo relacionadas a los tratamientos, ni tampoco de la materia orgánica o Cu total.

Para *B. linearis*, se obtuvo una concentración de Cu total de 67,3 mg/kg el año 2009 (no se cosechó el 2008). No fue posible realizar un análisis estadístico por ANOVA o regresión para analizar el efecto de los tratamientos o las variables edáficas sobre la extracción debido a la pérdida de gran cantidad de individuos por ramoneo, lo que dejó muy pocos datos para hacer la estadística.

#### 6.6.1.5. Efecto de las enmiendas en la extracción de cobre por individuo y por superficie

La extracción de cobre por individuo en *O. picensis* fue en promedio de  $2,3 \pm 2,3$  mg/planta el primer año de cultivo (2008) y de  $0,45 \pm 0,21$  mg/planta el segundo año de cultivo (2009), siendo estadísticamente diferentes en ambos años ( $p=0,000$ , Gráfico 5). No hubo efectos directos de los tratamientos sobre la extracción (según ANOVA). Según el análisis por regresión, tampoco hubo efecto de las variables edáficas ligadas a los tratamientos o de la concentración de cobre total en el suelo sobre la extracción de cobre por individuo. Hubo un efecto significativo de la materia orgánica del suelo sobre la extracción de Cu por individuo en el año 2008, pero no el año 2009 ( $p=0,002$  el año 2008 y  $p>0,05$  el año 2009) (Gráfico 5).



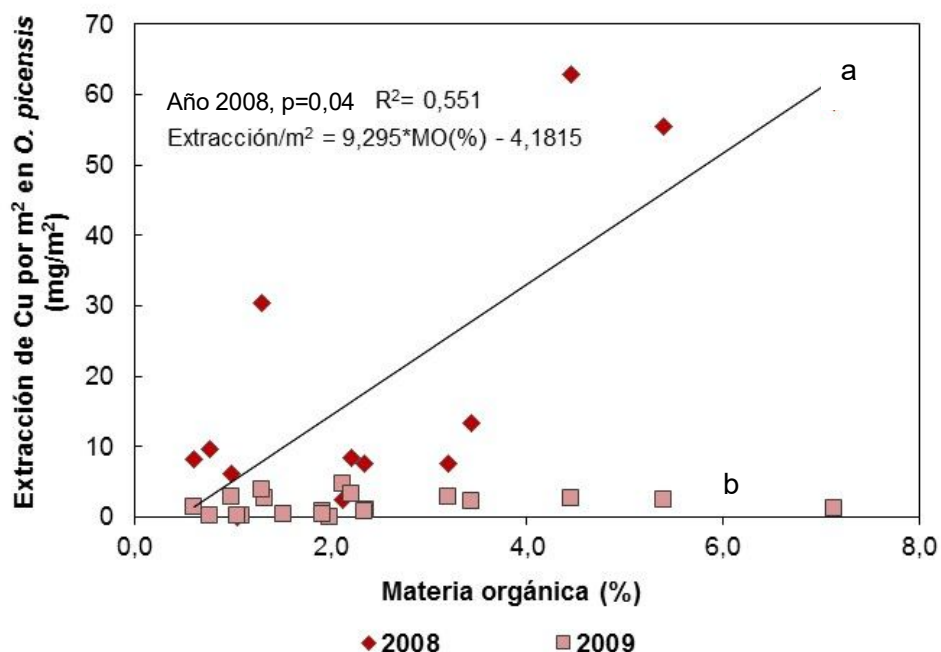
**Gráfico 5.- Efecto de la materia orgánica sobre la extracción de cobre por individuo en *O. picensis*.**

Fuente: elaboración propia

La extracción de cobre por individuo en *B. linearis* se determinó en el 2° año, al momento de su cosecha, y fue en promedio  $5,86 \pm 4,35$  mg/planta. Como se mencionó anteriormente, no fue posible hacer un análisis estadístico por ANOVA o por regresión para relacionar los tratamientos y las variables edáficas con esta variable, dada la pérdida de gran parte de los individuos por ramoneo.

Para *O. picensis* la extracción de cobre por  $m^2$  (calculada considerando la sobrevivencia) fue en promedio de  $21,8 \pm 23,2$  mg/ $m^2$  el 2008 y de  $1,66 \pm 1,42$  mg/ $m^2$  el año 2009, existiendo diferencias significativas entre ambos años ( $p=0,001$ ). No hubo efectos de los tratamientos sobre la extracción por superficie (ANOVA). Tampoco hubo efecto de las variables edáficas ligadas a los tratamientos sobre la extracción por  $m^2$ . Hubo una relación significativa entre la extracción de cobre por metro cuadrado y la materia orgánica en el año 2008 ( $p=0,04$ ,  $R^2=0,54$ ) pero no el año 2009 (Gráfico 6).

La extracción de cobre por  $m^2$  en *Baccharis linearis* fue en promedio de  $9,2 \pm 6,8$  mg/ $m^2$ . No fue posible realizar un análisis estadístico ANOVA o por regresión debido a la pérdida de individuos.



**Gráfico 6.-Relación entre materia orgánica y la extracción de cobre por metro cuadrado en *O. picensis*.**

Letras distintas indican diferencias significativas de las medias de extracción/m<sup>2</sup> entre ambos años (p=0,001).  
Fuente: elaboración propia

#### 6.6.1.6. Determinación de enmiendas que mejoran la extracción

Se desprende de las secciones anteriores que los manejos agronómicos no lograron tener efectos significativos sobre la extracción de Cu por *O. Picensis*. No se puede asegurar esto para *B. linearis* ya que no fue posible hacer un análisis estadístico.

La materia orgánica del suelo, variable que no se modificó con los tratamientos pero si tenía una amplia variación inicial en los suelos (y es manejable con manejos agronómicos), si tuvo efecto sobre la extracción de *O. Picensis* en el año 2008.

Del análisis de los gráficos 4 y 5 y de las ecuaciones de regresión obtenidas se desprende que el valor óptimo de materia orgánica en el suelo, para obtener la máxima extracción en *O. picensis* es entre un 5 y un 7%. Sin embargo, debe clarificarse por qué el año 2009 no hubo efectos de la materia orgánica y cómo esto afecta la validez de seleccionar a la materia orgánica como estrategia de mejoramiento (se discute en capítulo VII).

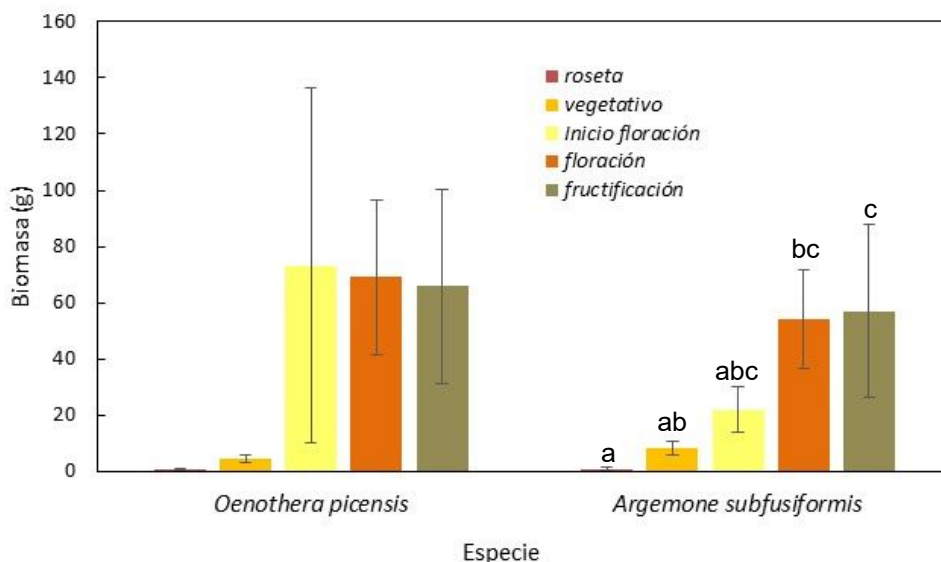
#### 6.6.2. Ensayo 2: Determinación del estado fenológico en que las especies estudiadas presentan la máxima concentración de Cu en su parte aérea.

##### 6.6.2.1. Producción de biomasa según estado fenológico

Para la producción de biomasa en *O. picensis* solo se pudieron comparar los estados: vegetativo, inicio de floración y floración, ya que no hubo suficientes

muestras en los estados de roseta y fructificación<sup>45</sup>. No hubo diferencias significativas para la producción de biomasa entre los diferentes estados fenológicos evaluados estadísticamente (Gráfico 7).

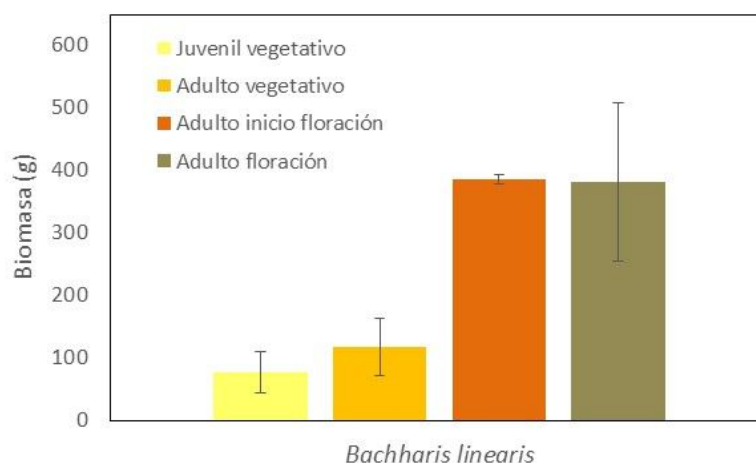
Para la producción de biomasa en *A. subfusiformis* hubo diferencias significativas entre los estados fenológicos, siendo la biomasa significativamente mayor en el estado de fructificación, en relación al estado en roseta y vegetativo ( $p=0,008$ , Gráfico 7).



**Gráfico 7.- Biomasa aérea en las especies herbáceas estudiadas, en distintos estados fenológicos.**

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas en la biomasa aérea para los distintos estados fenológicos ( $p<0,05$ ).  
Fuente: elaboración propia

Para *B. linearis*, no hubo diferencias significativas entre los diferentes estados fenológicos para la variable biomasa aérea (Gráfico 8).



**Gráfico 8. Biomasa aérea en *B. linearis* según estado fenológico.**

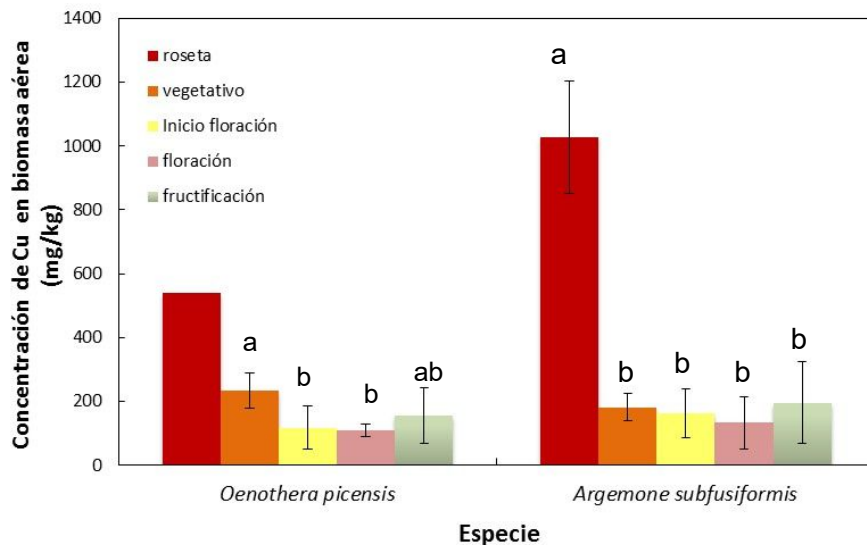
El análisis Anova no reveló diferencias entre estados fenológicos  
Fuente: elaboración propia

<sup>45</sup> Cabe mencionar que en algunos casos se muestrearon individuos en un estado fenológico que fue luego rectificado por un botánico, por lo que algunos estados fenológicos cambiaron y quedaron con menos repeticiones

### 6.6.2.2. Concentración de cobre en la biomasa aérea según estado fenológico

Para *O. picensis* no fue posible analizar estadísticamente todos los datos, debido a que para el estado roseta y fructificación no se obtuvieron suficientes repeticiones<sup>45</sup>. Hubo diferencias significativas entre los estados vegetativo y los estados más desarrollados en *O. picensis*, siendo mayor la concentración de Cu en el estado vegetativo ( $p=0,019$ , Gráfico 9).

Hubo diferencias significativas en la concentración de cobre en la biomasa aérea de *A. subfusiformis* en estado de roseta, en comparación a los estados fenológicos más desarrollados, siendo evidente la mayor concentración de Cu en el estado inicial de la especie, cuando tiene una menor producción de biomasa ( $p=0,000$ , Gráfico 9).

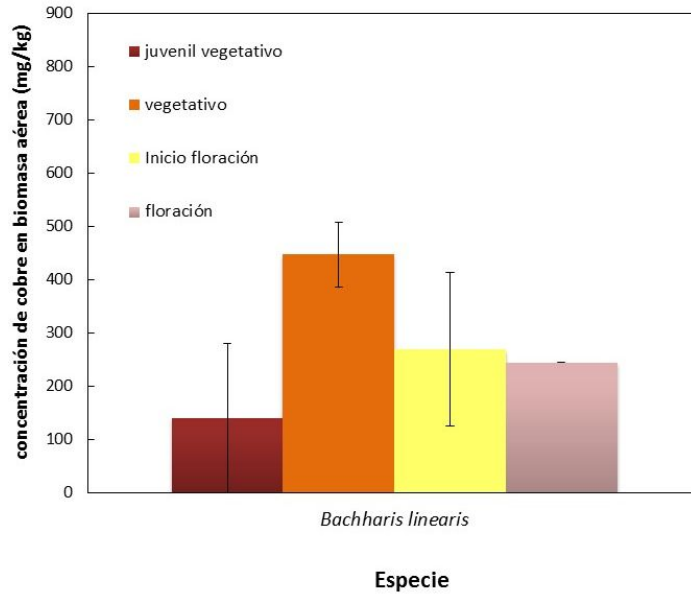


**Gráfico 9. Concentración de Cu en la biomasa aérea de *O. picensis* y *A. subfusiformis* en relación a su estado fenológico.**

Letras diferentes indican diferencias significativas entre estados fenológicos, para una misma especie ( $\alpha<0,05$ ).  
Fuente: elaboración propia

Para *B. linearis* no hubo diferencias significativas en la concentración de Cu en la biomasa aérea en los diferentes estados fenológicos (Gráfico 10).





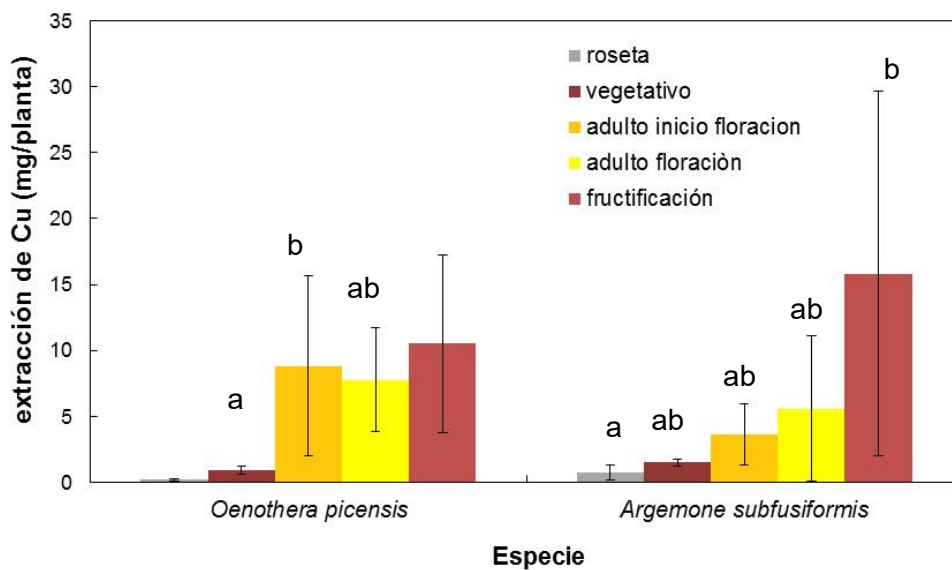
**Gráfico 10. Concentración de cobre foliar en *B. linearis*, en distintos estados fenológicos.**

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ )  
Fuente: elaboración propia

#### 6.6.2.3. Extracción de cobre según estado fenológico

Para *O. Picensis* hubo diferencias significativas entre los estados fenológico, vegetativo e inicio de la floración, presentando este último una mayor extracción promedio de Cu ( $p = 0,036$ ). No fue posible incluir los estados fenológicos de roseta y fructificación en el análisis dado que no se contó con suficientes repeticiones<sup>45</sup> (Gráfico 11).

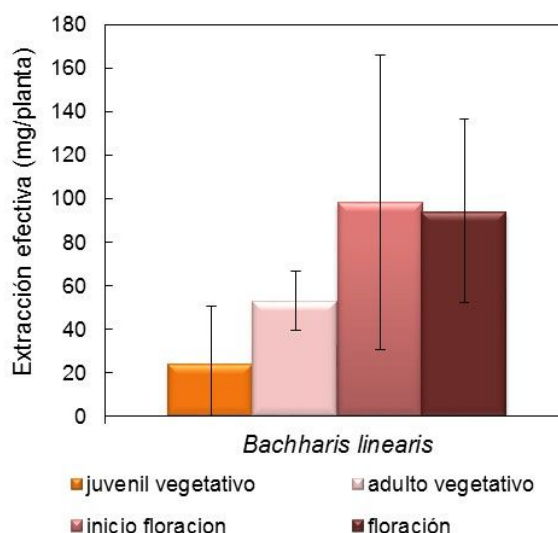
Para *A. subfusiformis* hubo diferencias significativas entre el estado de roseta y el estado de fructificación, teniendo una mayor extracción la planta en el último. El resto de los estados fenológicos no tiene diferencias significativas entre si o con los antes mencionados ( $p = 0,049$ , Gráfico 11).



**Gráfico 11. Extracción efectiva de cobre por *O. picensis* y *A. subfusiformis*, en distintos estados fenológicos.**

Letras diferentes indican diferencias significativas entre estados fenológicos, para una misma especie

Para *B. linearis* no hubo diferencias significativas en la extracción de Cu, para los distintos estados fenológicos (Gráfico 12).



**Gráfico 12. Extracción efectiva de cobre por *B. linearis*, en distintos estados fenológicos.**

No hubo diferencias significativas en la extracción de Cu en los distintos estados fenológicos (p>0,05).  
Fuente: elaboración propia

#### 6.6.2.4. Determinación de estado fenológico ideal para cosecha

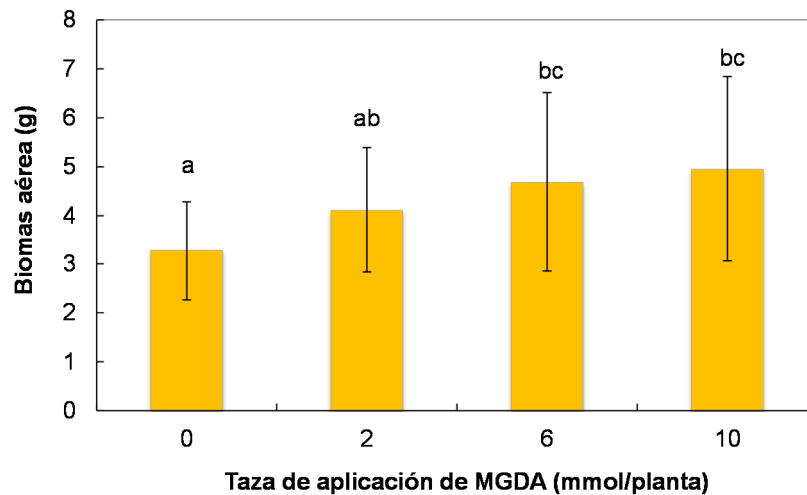
Considerando los resultados obtenidos para la extracción total de Cu por las especies, se determina que para *B. linearis* no es posible identificar un estado fenológico de mayor extracción de Cu, mientras que para las especies herbáceas si lo es. Para *O. picensis* el estado de mayor extracción de Cu es al inicio de la floración o en la floración (no hay diferencias entre ambos estados) y para *A. subfusiformis* el estado fenológico de mayor extracción es el de fructificación.

#### 6.6.3. Ensayo 3: Efecto de la adición de quelante al suelo en la extracción de cobre en las especies estudiadas.

Como se mencionó en la metodología (sección 5.5.3.3.), este ensayo se realizó en condiciones controladas solo para *O. Picensis*, extrapolándose los resultados directamente a terreno en el caso de *B. linearis*, dado que la disponibilidad de materiales requeridos para los ensayos controlados impedían realizar dos ensayos paralelamente y el tiempo requerido era de 8 meses, no disponiéndose de ese tiempo para la realización de un nuevo ensayo.

##### 6.6.3.1. Efecto de la adición de quelante al suelo sobre la producción de biomasa de *O. picensis*

La adición de quelantes afectó significativamente la producción de biomasa en las plantas, para las dosis de 6 y 10 mmol de MGDA/planta (p=0,013), aumentando la producción de biomasa en 1,5 veces respecto del control (Gráfico 13). Se observaron signos de clorosis leve con estas concentraciones de MGDA.

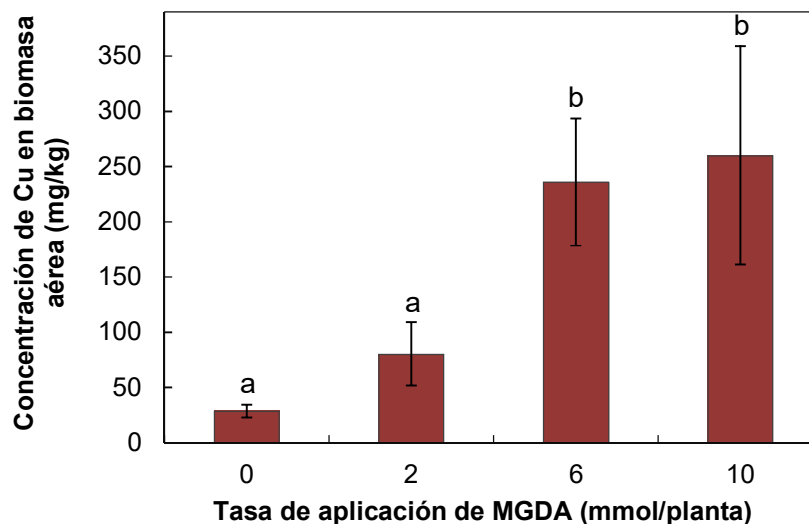


**Gráfico 13. Efecto de la aplicación de MGDA sobre la producción de biomasa en *O. picensis*.**

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $\alpha < 0,05$ )  
Fuente: elaboración propia

#### 6.6.3.2. Efecto de la adición de quelantes al suelo sobre la concentración de cobre en hojas y tallo de *O. Picensis*

La concentración de Cu en la biomasa aérea de *O. picensis* aumentó significativamente con la tasa de aplicación de MGDA ( $P=0,000$ , Gráfico 14). Las concentraciones de Cu en la biomasa aérea fueron en promedio 4,5 veces mayores en los tratamientos de 6 y 10 mmol/planta en relación al control y al tratamiento de 2 mmol/planta (estadísticamente similares entre ellos).

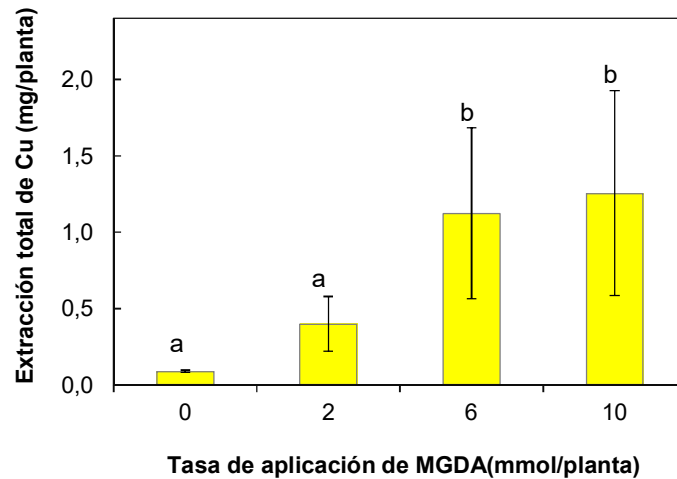


**Gráfico 14. Efecto de la aplicación de MGDA sobre la concentración de Cu en la biomasa aérea de *O. picensis*.**

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $\alpha < 0,05$ ).  
Fuente: elaboración propia

### 6.6.3.3. Efecto de la adición de quelante sobre la extracción total de Cu en *O. Picensis*

La extracción total de Cu por parte de *O. picensis* aumentó significativamente con la tasa de aplicación de MGDA ( $P=0,000$ , Gráfico 15). La extracción de Cu promedio en los tratamientos de 6 y 10 mmol/planta fue 13 veces mayor que la extracción de Cu en el tratamiento control.

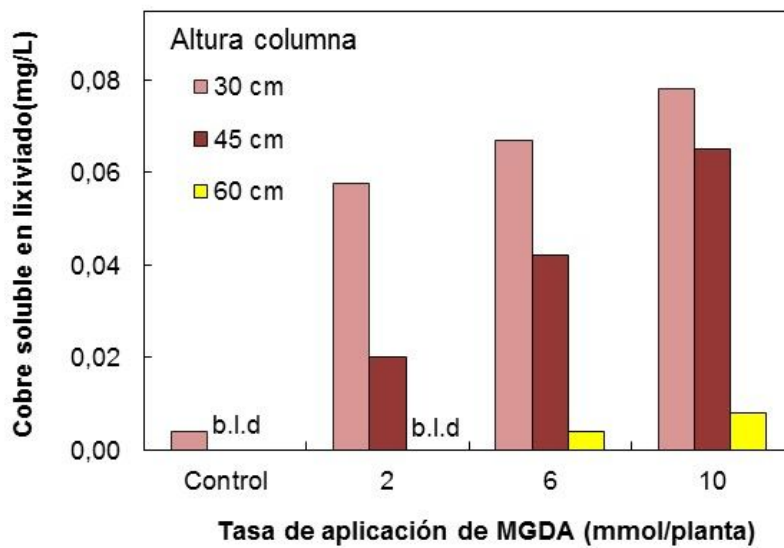


**Gráfico 15. Efecto de la aplicación de MGDA sobre la extracción total de Cu por *O. picensis*.**

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ( $\alpha < 0,05$ )  
Fuente: elaboración propia

### 6.6.3.4. Efecto de la aplicación de quelante sobre el cobre en los lixiviados, a diferente profundidad.

En las columnas de 30 cm de alto, no hubo diferencias significativas entre tratamientos, para la concentración de Cu soluble en el lixiviado. No fue posible realizar un análisis estadístico para las otras alturas de columna, ya que en algunos casos a 45 o 60 cm no se obtuvo lixiviado y en otros casos se obtuvieron solo 1 o dos repeticiones. Aun así, la tendencia indica que el Cu soluble disminuye a valores cercanos al 0 en los 60 cm, independientemente del tratamiento (Gráfico 16).



**Gráfico 16. Efecto de la altura de la columna y el tratamiento, sobre el Cu soluble en el lixiviado.**

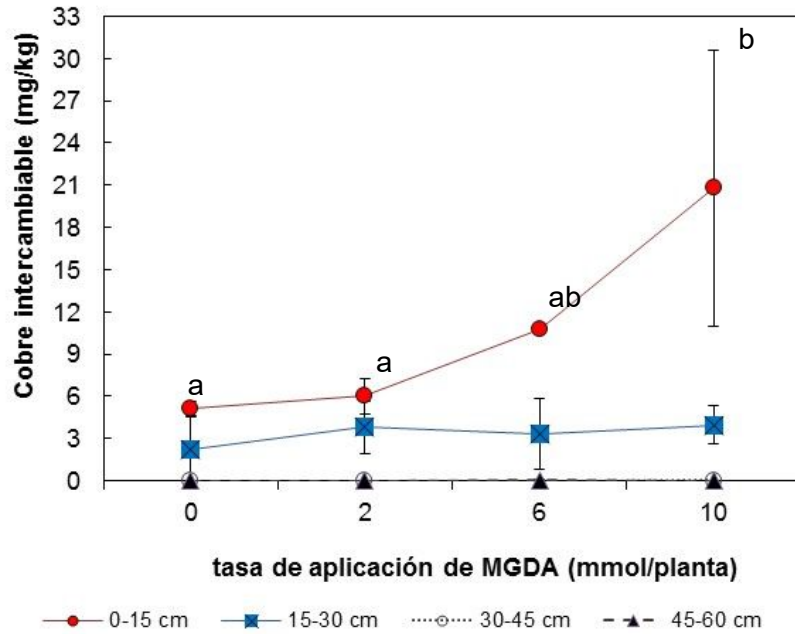
Fuente: elaboración propia

#### 6.6.3.5. Efecto de la aplicación de quelante sobre la movilización de Cu y nutrientes en las distintas estratas del suelo.

Al final del ensayo, no hubo diferencias en el  $pCu^{+2}$ , pH, concentración de Cu total, N, P o K del suelo entre las distintas dosis de MGDA, para cada estrata de suelo.

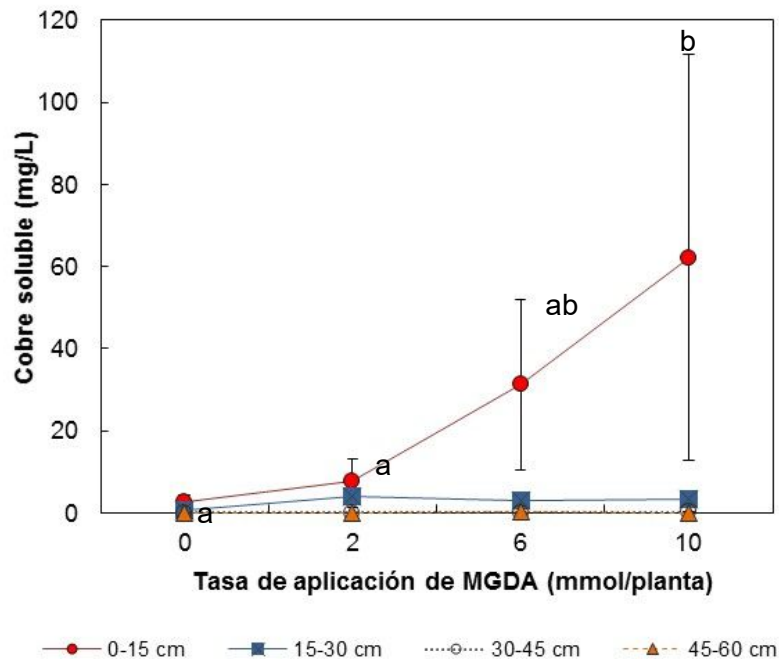
Hubo diferencias en la concentración de Cu intercambiable en el suelo en la primera estrata entre los distintos tratamientos (0-15 cm,  $p=0,017$ ). En el tratamiento de 10 mmol/planta, la concentración fue 4 veces mayor a las concentraciones del control y 2 mmol/planta (Gráfico 17). Para el resto de las estratas no hubo diferencias en el Cu intercambiable.

Hubo diferencias en la concentración de Cu soluble en el suelo en la primera estrata (0-15 cm,  $p=0,026$ ), siendo esta concentración, en el tratamiento de 10 mmol/planta, 14 veces mayor a las concentraciones del control y 2 mmol/planta (Gráfico 17). Para el resto de las estratas no hubo diferencias en el Cu soluble.



**Gráfico 17. Efecto de la aplicación de MGDA en el cobre intercambiable en cada estrata de suelo.**

Letras diferentes en cada línea (estrata) indican diferencias significativas entre tratamientos ( $\alpha < 0,05$ ).  
Fuente: elaboración propia



**Gráfico 18. Efecto de la dosis de MGDA sobre la concentración de Cu soluble en cada estrata.**

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos, para la estrata 0-15 ( $\alpha < 0,05$ ).  
Fuente: elaboración propia

#### 6.6.3.6. Determinación de la eficiencia del quelante en la extracción de Cu y selección de dosis adecuada

A partir de los resultados expuestos en las secciones anteriores, se considera que una dosis de 6 o 10 mmol/planta de MGDA es efectiva en el aumento de la

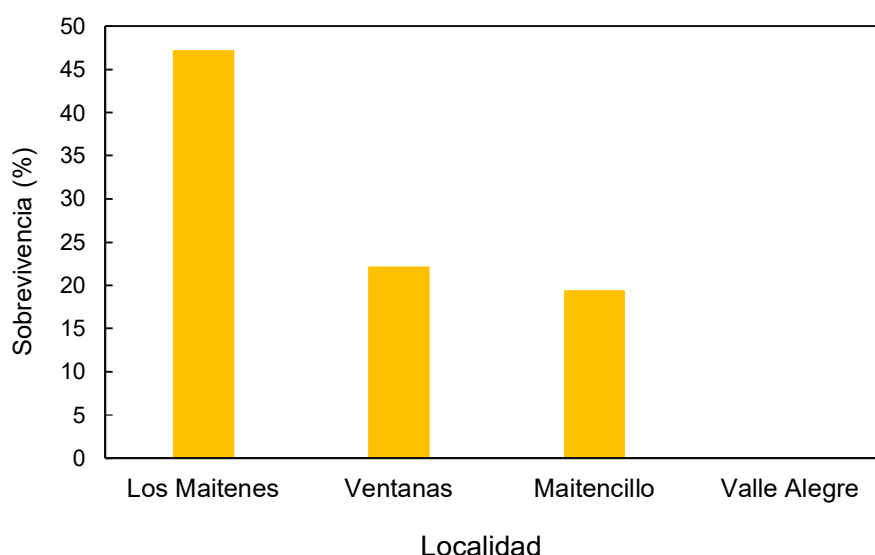
extracción de Cu en *O. Picensis*, produciendo además mínimos aumentos en la lixiviación de Cu en el perfil ya que si bien aumenta las fracciones solubles de Cu en la primeras capas, esto no supera los 30 cm en forma significativa. Además, no genera una movilización de nutrientes o alteración del pH del suelo.

#### 6.6.4. Ensayo 4: Aumento y homogenización de la capacidad de extracción de Cu mediante selección fenotípica de individuos de *O. picensis* y *A. subfusiformis*

##### 6.6.4.1. Etapa 1. Selección y recolección de semillas

- Primer ciclo: Sobrevivencia

*Argemone subfusiformis* no sobrevivió al primer ciclo del proceso de selección, presentando un casi nulo desarrollo de biomasa durante varios meses y muriendo luego todos los individuos, tal como sucedió paralelamente en el ensayo inicial descrito en la sección 6.5.1, por lo que la especie se descartó para los futuros ensayos. Las poblaciones de *Oenothera picensis* tuvieron sobrevivencias variables, siendo esta mayor en los individuos provenientes de semilla colectada en Los Maitenes y nula en los individuos provenientes de Valle Alegre (Gráfico 19).



**Gráfico 19. Sobrevivencia de las distintas poblaciones de *O. picensis* en la primera etapa del proceso de selección fenotípica.**

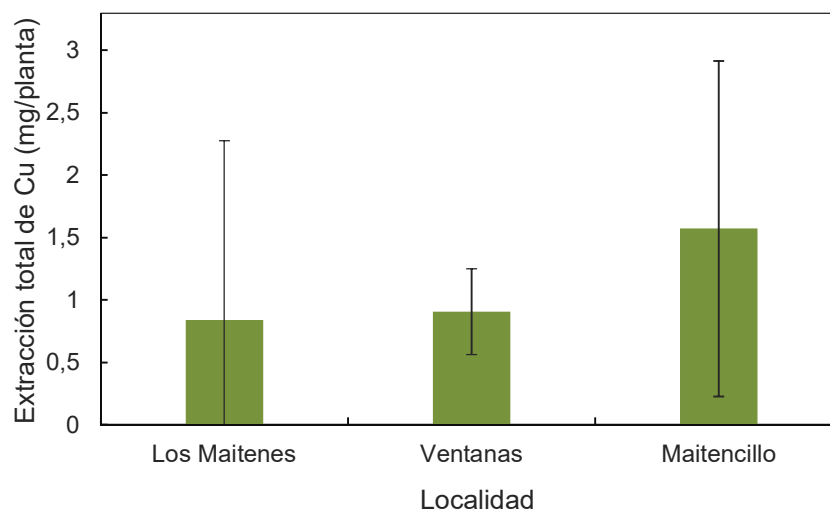
Fuente: elaboración propia

- Primer ciclo: recolección de semillas

En este ciclo, luego de inducir la autopolinización de las plantas, se colectó la semilla de cada una de ellas, almacenándose en condiciones frescas en tubos plásticos cerrados y etiquetados con el identificador de la planta.

- Segundo ciclo: selección en base a la capacidad de extracción de Cu de los individuos

Los resultados obtenidos de la extracción total de Cu por individuo indican que no existen diferencias significativas entre localidades, en la extracción de Cu, dada la amplia variación en la extracción de Cu por diferentes individuos (Gráfico 20).

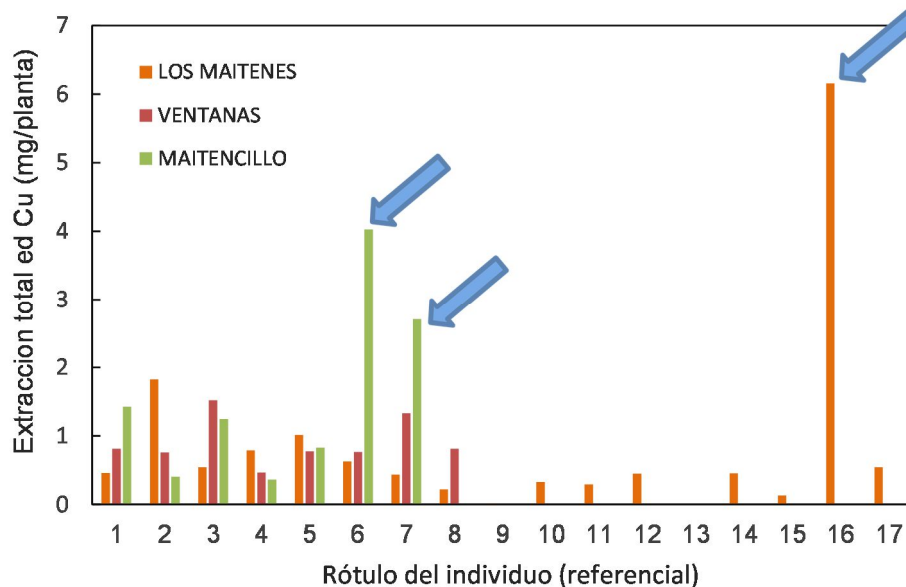


**Gráfico 20. Variación de la extracción de Cu por individuo, entre diferentes localidades de origen de las semillas**

No se incluyó a la localidad de Valle Alegre ya que la sobrevivencia de la semilla de esta localidad fue nula.

Fuente: elaboración propia

La mayor extracción de Cu por individuo se observó en una planta proveniente de Los Maitenes seguida de dos individuos provenientes de semilla de Maitencillo (Gráfico 21). En los tres casos, si bien la concentración de Cu en la biomasa aérea fue similar a la de los otros individuos de la población, la producción de biomasa fue mucho mayor (119, 57 y 36 g, en comparación a un promedio total de todas las poblaciones de 17,4 g, datos no graficados). En base a esta información, la semilla de estos tres individuos (obtenida de la autopolinización en el ciclo 1) se seleccionó y se propagó en la siguiente etapa.



**Gráfico 21. Variación de la extracción de cobre entre los individuos provenientes de semilla de cada localidad.**

Se indican con una flecha azul los individuos con mayor extracción de Cu, seleccionados para la etapa siguiente (propagación). La diferencia en el número de individuos en las diferentes localidades obedece a las diferentes sobrevivencias que tuvieron las plantas evaluadas en cada localidad (inicialmente 36 en cada localidad, ver Gráfico 20).

Fuente: elaboración propia



#### 6.6.4.2. Etapa 2: reproducción

La reproducción de las plantas fue dificultosa, ya que las semillas presentaron muy bajo porcentaje de germinación (algo que no se había reportado antes), requiriéndose varias tandas de germinación, con cantidades creciente de semilla, para obtener individuos suficientes para trasplantar a terreno. Una vez germinados suficientes individuos, y luego del trasplante de las plántulas de 1 mes de vida al terreno, las plantas mostraron un lento crecimiento (algo que tampoco había sucedido en otros ensayos), muriendo todas en un período de aproximadamente un mes.

En consecuencia, no fue posible cosechar las plantas ni calcular su extracción de Cu. Las causas de la muerte de las plantas se discuten en el siguiente capítulo.

#### 6.6.5. Selección, por especie, de las estrategias de mejoramiento de la extracción más eficientes

Considerando los resultados obtenidos en las secciones 6.5.1. a 6.5.4., se seleccionaron para cada especie, aquellos mejoramientos que aumentaron significativamente la extracción de Cu de los individuos y la extracción por superficie. Para *O. picensis* se seleccionó la adición de materia orgánica y la adición de quelantes, combinado con una cosecha en estado reproductivo. Para *B. linearis*, no se obtuvieron resultados para la adición de quelantes (no se probó en condiciones controladas por dificultades operacionales) y no hubo resultados confiables para la adición de enmiendas (debido a la pérdida de la mayor parte de individuos por ramoneo); sin embargo, se decidió probar en el ensayo final los mismos mejoramientos seleccionados para *O. picensis*. En el caso de *B. linearis* el momento de cosecha no fue relevante para el aumento de la extracción de Cu, por lo que la cosecha se hizo en forma paralela a la de *O. picensis* (Tabla 19).

**Tabla 19. Síntesis de mejoramientos seleccionados para cada especie.**

Especie	Mejoramientos seleccionados		
<i>Argemone subfusiformis</i>	No se seleccionaron mejoramientos dado que la especie no prosperó en ninguno de los ensayos. La especie fue descartada del estudio		
<i>Oenothera picensis</i>	Adición de MGDA a una concentración de 6 o 10 mmol/planta en dos aplicaciones	Adición de materia orgánica hasta una concentración de un 5-7%	Cosecha de individuos en estado reproductivo
<i>Baccharis linearis</i>	No fue posible determinar con certeza si la materia orgánica u otra variable edáfica tuvieron efecto en la extracción debido a la pérdida de individuos. No fue posible realizar el ensayo con quelantes en condiciones controladas. Por lo tanto se decidió extrapolar los resultados obtenidos para <i>O. picensis</i> a <i>B. linearis</i> .		El estado fenológico no influye significativamente sobre la extracción. Se cosechará en forma paralela a <i>O. picensis</i>

Fuente: elaboración propia

## 6.7. Evaluación del efecto combinado de las estrategias de mejoramiento seleccionadas sobre la extracción de cobre en las diferentes especies en estudio

Se aplicaron en conjunto y en forma separada 6 mmol/planta de MGDA y compost hasta llegar a un 5-7% de materia orgánica, para las especies *B. linearis* y *O. Picensis*

### 6.7.1. Efecto de las enmiendas en los suelos dos meses después del fin del ensayo

Considerando las características iniciales del suelo, la incorporación de compost aumentó la concentración de potasio y fósforo disponibles en relación a los suelos no tratados. Sin embargo, esta no influyó significativamente en el nitrógeno disponible ni en el porcentaje de materia orgánica (Tabla 21).

La adición de compost (levemente alcalino, ver Tabla 10) aumentó significativamente el pH en los tratamientos compost y compost + quelante. Asimismo la adición de compost disminuyó el cobre libre ( $pCu^{+2}$ ) en la solución.

Tres meses después de la última aplicación de quelante (dos meses después de la cosecha) al suelo pudo apreciarse un significativo efecto de éste sobre la concentración de Cu intercambiable en el suelo (1,8 veces el valor control). Sin embargo, la adición conjunta de compost + quelante disminuyó la concentración de Cu intercambiable en relación al control (a un 11% el valor en el control, valor similar al obtenido en el tratamiento de compost solo, Tabla 20). Se debe considerar que estas mediciones fueron 2 meses después de la última aplicación de quelante al suelo.

**Tabla 20. Efecto de los tratamientos (compost y quelante) sobre las características químicas y físico-químicas de los suelos superficiales (0-15 cm) en el sitio de estudio, 10 meses después de la aplicación del compost y 2 meses después de la aplicación del quelante.<sup>46</sup>**

Característica del suelo	Control	Quelante	Compost	Compost + quelante
pH	5.3±0.1 a	5.1±0.5 a	6.3±0.2 b	6.7±0.2 b
$pCu^{2+}$	3.9±0.2 a	3.6±0.0 a	5.6±1.0 b	6.2±0.5 b
$Cu_{interc}$ (mg/kg)	68±26 b	121±19 a	8.0±7.9 c	7.4±4.4 c
P disponible (mg/kg)	35±5.4 a	44±4.1 ab	47±4.5 b	55±8.4 b
K (mg/kg)	184±34 a	180±27 a	442±25 b	438±67 b
N disponible (mg/kg)	25±6.3 a	19±4.3 a	17±8.8 a	16±1.6 a
Materia orgánica (%)	2.7±0.6 a	3.8±0.3 a	3.5±0.6 a	3.9±1.3 a

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias entre tratamientos para la variable ( $p < 0,05$ ). No se presentan los valores de Cu total en las diferentes estratas, ni la textura ya que estas características no variaron significativamente con la adición de los tratamientos  
Fuente: elaboración propia

### 6.7.2. Supervivencia

La supervivencia para *O. picensis* fue muy baja, de un 25±7; para *B. linearis*

<sup>46</sup> No se determinó el Cu soluble después de aplicadas las enmiendas

fue de un 100%. Sin embargo el % de sobrevivencia no se consideró para los cálculos finales de extracción ya que en base a las discusiones (ver capítulo VII), se demostró que la sobrevivencia en todos los ensayos realizados dependió mayormente de las precipitaciones y el ataque de roedores, variable que puede ser manejada con sistemas de riego y protecciones adecuadas para evitar el ramoneo (en este ensayo los individuos de *B. linearis* fueron protegidos pero inicialmente no los de *O. picensis*, estos solo se protegieron al notar que los roedores también los consumían)

### 6.7.3. Producción de biomasa

En *O. picensis*, la producción de biomasa varió entre 0,08 y 20 g, con un promedio de  $5,5 \pm 7,1$  g. El análisis de diferencias de medias (ANOVA) no arrojó diferencias para la producción de biomasa, entre tratamientos (Tabla 21), aunque el tratamiento quelante presentó la media mas alta.

**Tabla 21. Efecto de los tratamientos sobre la biomasa aérea, concentración de Cu y extracción de Cu en *Oenothera picensis*.**

Tratamientos	Biomasa/planta (g)	Cu en biomasa aérea (mg/kg)	Extracción (mg/planta/año)	Extracción (mg/m <sup>2</sup> /año)
Control	0,7±1,1a	346±241a	0,17±0,1a	1,9±1,4a
Quelante	10±9,5a	381±222a	1,1±1,3a	13±15
Compost	6,8±9,1a	87±223a	0,65±1,0a	7,0±12
Compost + quelante	5,3±5,8a	131±44a	0,66±1,0a	7,2±11
Promedio	5,5±7,.1	234±54	0,65±0,95	7,7±11

Fuente: elaboración propia

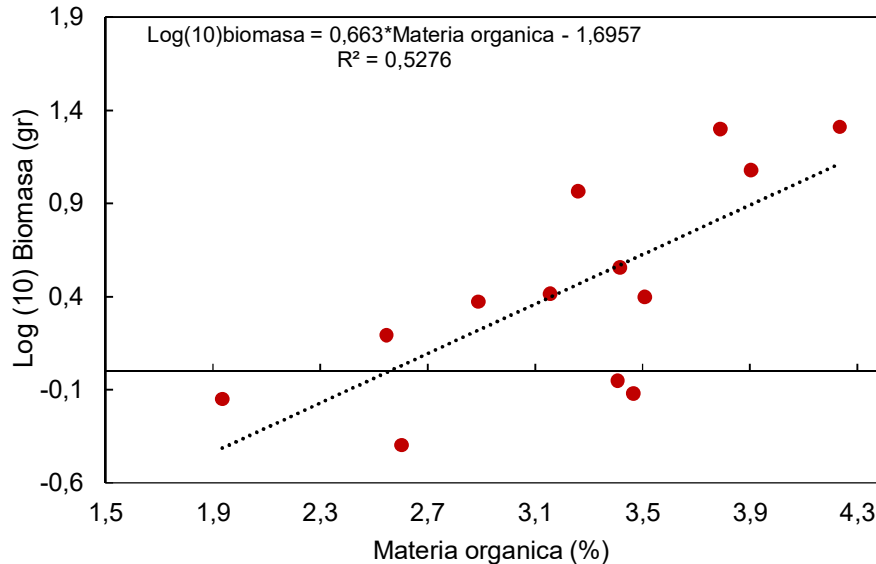
El análisis por regresión arrojó que la biomasa en *O. picensis* se relacionó significativamente con la materia orgánica del suelo ( $P=0,05$ ,  $R^2=53\%$ ). A mayor porcentaje de materia orgánica en el suelo, mayor producción de biomasa en *O. picensis* (siguiendo un modelo logarítmico, Gráfico 22).

La biomasa en *B. linearis* fluctuó entre 8,2 y 94,3 g, con un promedio de  $48 \pm 26$  g. No hubo diferencias significativas entre tratamientos, para la variable biomasa (ANOVA, Tabla 22). El análisis por regresión indicó que la biomasa no se relacionó significativamente con ninguna de las variables edáficas medidas.

**Tabla 22. Efecto de los tratamientos sobre la biomasa aérea, concentración de Cu y extracción de Cu por individuo en *Baccharis linearis*.**

Tratamientos	Biomasa/planta (g)	Cu en biomasa aérea (mg/kg)	Extracción (mg/planta/año) <sup>47</sup>	Extracción (mg/m <sup>2</sup> /año)
Control	45±22a	71±10a	1,7±2,0a	4,7±2,8a
Quelante	47±25a	69±16a	2,0±1,7a	4,5±2,4a
Compost	49±17a	60±14a	1,3±0,6a	3,8±0,80a
Compost + quelante	50±46a	61±15a	1,6±3,0a	4,4±4,1a
Promedio	48±26	65±12	1,6±0,9	4,4±2,5

<sup>47</sup> Obtenido al dividir la extracción obtenida en los dos años de cultivo de la especie



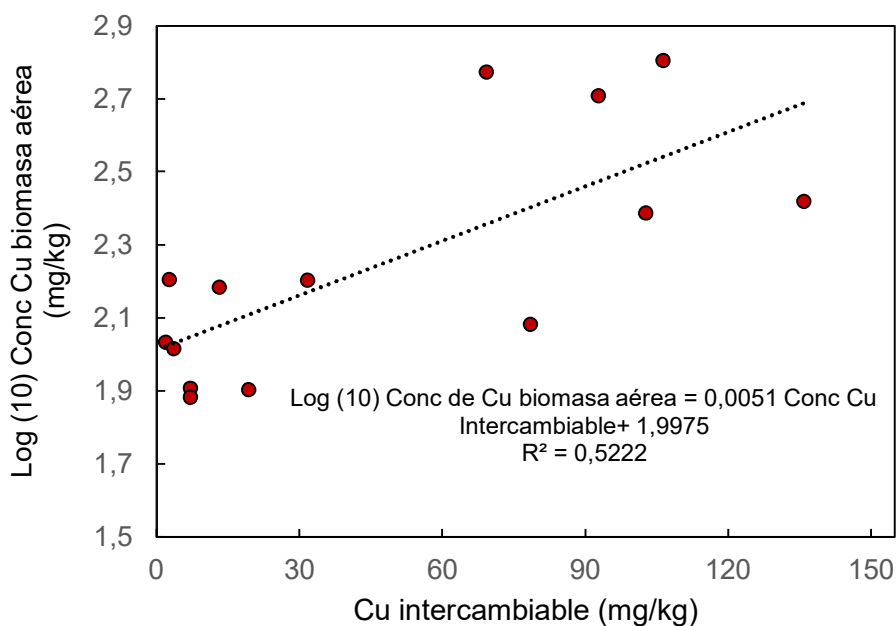
**Gráfico 22. Efecto del porcentaje de materia orgánica del suelo sobre la producción de biomasa de *O. picensis*.**

Fuente: elaboración propia

#### 6.7.4. Concentración de Cu en la biomasa aérea

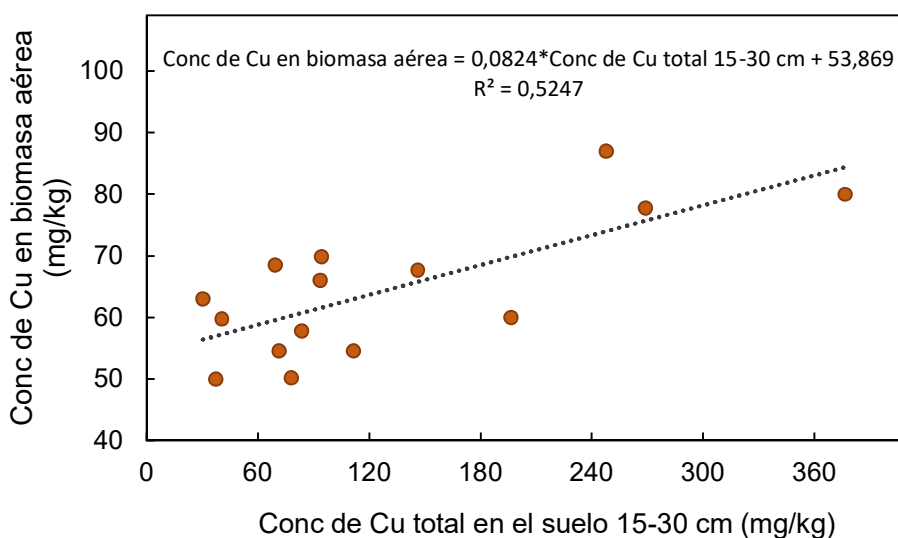
En *O. picensis* la concentración de Cu en la biomasa aérea varió entre 60 y 791 mg/kg con un promedio de 234 mg/kg. No hubo diferencias significativas entre tratamientos, para la concentración de Cu en la biomasa aérea (ANOVA, Tabla 21). El análisis por regresión mostró que la única variable edáfica que se relacionó con la concentración de Cu en la biomasa aérea de *O. picensis* fue la concentración de Cu intercambiable (Gráfico 23). A mayor Cu intercambiable en el suelo, mayor concentración de Cu en la biomasa aérea (siguiendo un modelo logarítmico,  $p=0,004$ ,  $R^2=52,2\%$ ).

Para *B. linearis*, la concentración de Cu en la biomasa aérea fluctuó entre 50 y 90 mg/kg, con una media de  $65\pm 12$  mg/kg. El análisis de diferencia de medias ANOVA no mostró diferencias significativas entre tratamientos para esta variable (Tabla 22). El análisis por regresión indicó que la única variable edáfica que se relacionó a la concentración de Cu en la biomasa aérea fue la concentración de Cu total entre 15-30 cm de profundidad (Gráfico 24). A mayor concentración de Cu total en el suelo entre 15-30 cm, mayor concentración de cobre en la biomasa aérea de *B. linearis* ( $p=0,005$ ,  $R^2=52\%$ ).



**Gráfico 23. Efecto de la concentración de Cu intercambiable en el suelo superficial sobre la concentración de Cu en la biomasa aérea de *O. picensis***

Fuente: elaboración propia



**Gráfico 24. Efecto de la concentración de Cu total en el suelo a los 15-30 cm sobre la concentración de Cu en la biomasa aérea de *B. linearis*.**

Fuente: elaboración propia

#### 6.7.5. Extracción de Cu por plantas y por superficie/año

La extracción de Cu/planta/año en *O. picensis* fluctuó entre 0,05 y 2,86 mg/planta, con un promedio de  $0,65 \pm 0,95$  mg/planta (Tabla 21). El análisis ANOVA no mostró diferencias significativas entre tratamientos para la extracción de Cu por *O. picensis* ( $p > 0,05$ ).

El análisis por regresión indicó que la extracción total de Cu por *O. Picensis* se relacionó significativamente con el porcentaje de materia orgánica y la

concentración de Cu intercambiable del suelo ( $p=0,023$ ,  $R^2=53\%$ <sup>48</sup>). La ecuación para la variable dependiente fue:

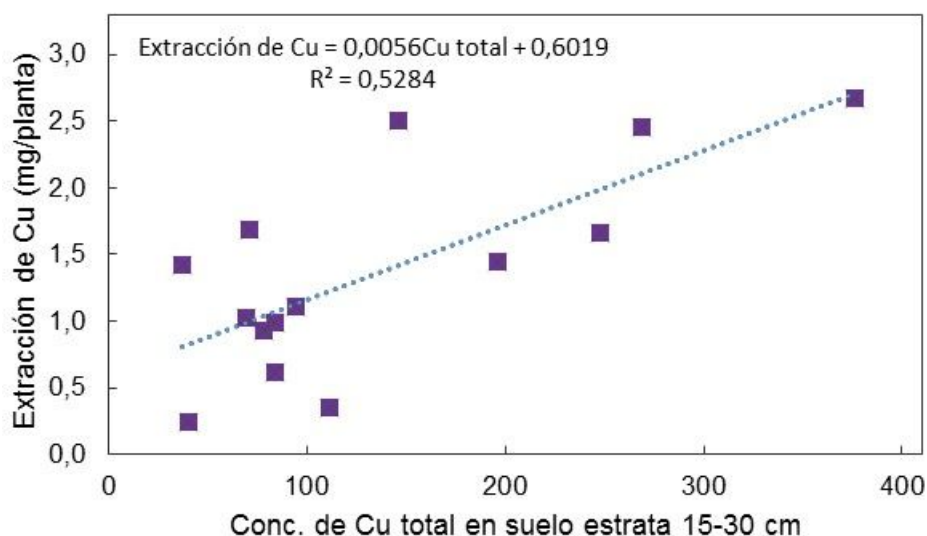
$$\begin{aligned} \text{Extracción de Cu por } O. \text{ picensis } \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}}\right) & \\ &= -0,4 + 1,4 * \text{materia orgánica en el suelo } (\%) + 0,01 \\ & * \text{Conc de Cu intercambiable } \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}}\right) \end{aligned}$$

El peso del Cu intercambiable en la ecuación es mayor al peso de la materia orgánica.

La extracción de Cu por superficie/año, considerando el marco de plantación (Tabla 9), fluctuó entre 0,4 y 32 mg/m<sup>2</sup>/año, con un promedio de  $7,7 \pm 11$  mg/m<sup>2</sup>/año<sup>49</sup>.

Para *B. linearis*, la extracción de Cu/planta/año fluctuó entre 0,24 y 3,0 mg/planta, con una media de  $1,6 \pm 0,9$  mg/planta/año. El análisis de diferencia de medias ANOVA no mostró diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 22). La extracción de Cu por *B. linearis* se relacionó significativamente con la concentración de Cu en el suelo, entre los 15 y 30 cm de profundidad. A mayor concentración de Cu en esta estrata, mayor extracción de Cu por *B. linearis* ( $p=0,03$ ,  $R^2=52,8\%$ , Gráfico 25).

La extracción de Cu por superficie/año de *B. linearis*, dependiente también de la concentración de Cu total en la estrata 15-30 cm, fluctuó entre 0,68 y 8,3 mg/m<sup>2</sup>, con un promedio de  $4,4 \pm 2,5$  mg/m<sup>2</sup>.



**Gráfico 25. Efecto de la Conc de Cu total en la estrata 15-30 cm del suelo sobre la extracción anual de Cu por *B. linearis***

Fuente: elaboración propia

En relación al ensayo prospectivo de poda de *B. linearis*, se pudo observar que las extracciones anuales por individuo, obtenidas al podar las plantas, fueron de un promedio de  $1,4 \pm 0,8$  mg/planta y por superficie/año de  $3,9 \pm 2,2$ . Este valor no difiere significativamente del valor anual obtenido en base a la cosecha de individuos cada dos años, por lo que es factible realizar este manejo en vez de extirparse el individuo completo.

<sup>48</sup> Sobre 50% se considera que el coeficiente de determinación y en consecuencia, la bondad de ajuste es "buena"

<sup>49</sup> para el cálculo no se consideró la sobrevivencia, suponiéndose un 100%, como se mencionó en 6.6.2

Cabe mencionar que la extracción por superficie en el tratamiento control, para *O. picensis* fue de  $1,9 \pm 1,4$  mg/kg en este ensayo (Tabla 21), en comparación al promedio del control en el ensayo inicial (determinación de número de ciclos de cultivo necesarios para remediar un suelo) de  $11 \pm 21$  mg/kg, Tabla 15, sección 6.5.5.). Asimismo la extracción por superficie para *B. linearis* en el control de este ensayo fue de  $4,7 \pm 2,8$  mg/kg en comparación a  $5,5 \pm 2,3$  estimado en el ensayo inicial. Las causas se discuten en el siguiente capítulo.

#### 6.7.6. Determinación de estrategias más eficientes sobre el aumento de la extracción, para cada especie

Para *O. picensis*, solo la **adición de quelantes** fue efectiva en incrementar la extracción, ya que aumentó significativamente el Cu intercambiable en el suelo, variable que influyó a su vez, significativamente y predominantemente sobre la extracción de Cu. La extracción por planta ( $1,1 \pm 1,3$  mg/kg) y por superficie ( $13 \pm 15$  mg/kg) en el tratamiento quelantes, aunque no presentó diferencias significativas, fue de 6,6 veces el promedio del control ( $0,17 \pm 0,12$  y  $1,92 \pm 1,44$  mg/kg, respectivamente) (Tabla 21).

La adición de materia orgánica sola o con quelantes no afectó significativamente el % de materia orgánica y además disminuyó el Cu intercambiable en el suelo (dado que su pH era básico, se discute en capítulo discusiones) por lo que no se consideró una estrategia eficiente.

Al contrario, para *B. linearis* puede deducirse que **las enmiendas no tuvieron efecto sobre la extracción**, ya que esta solo se relacionó al Cu total del suelo en la estrata 15-30 cm, variable que no fue afectada por las enmiendas aplicadas.

### 6.8. Determinación de número necesario de ciclos de cultivo, para remediar una superficie de suelo para cada especie

#### 6.8.1. *O. Picensis*

Para este cálculo se utilizó el rango y el promedio de extracciones por superficie obtenida para el tratamiento quelante ( $0,6-32$  mg/m<sup>2</sup>/año y promedio  $13 \pm 15$  mg/m<sup>2</sup>/año), que luego del análisis anterior se consideró el más exitoso en aumentar la extracción de Cu en *O. picensis*. Se consideró el valor obtenido proyectando la sobrevivencia a un 100%.

Los resultados indican que si bien se logró disminuir el número de ciclos necesarios para remediar un suelo en base a la extracción promedio, en un 15% (Tabla 23), el número de ciclos sigue estando en la magnitud de décadas e incluso milenios para suelos altamente contaminados. Incluso si el cultivo se forzara para obtener dos ciclos al año (con suficiente riego sería posible), el número de ciclos seguiría siendo muy alto. En consecuencia, considerando los mejoramientos realizados, no fue posible lograr una reducción del número de ciclos necesarios para remediar un suelo a un valor menor a 10 años, por lo que la técnica, con estas especies y mejoramientos, se considera aún inviable en términos de gestión de suelos contaminados de utilizarse aisladamente.

**Tabla 23. Comparación del número de ciclos necesarios para remediar una superficie de suelo con diferentes concentraciones iniciales de Cu, utilizando *O. picensis* sin mejoramiento v/s la adición de MGDA.**

	N° de ciclos de cultivo necesarios para remediar un suelo		
	Conc. Inicial de Cu disponible: 3 mg/kg	concentración inicial de Cu disponible: 48 mg/kg	concentración inicial de Cu disponible: 143 mg/kg
Con mejoramiento	42 (17-908)	821 (333-17.783)	2.465 (1.001-53.408)
Sin mejoramiento (Tabla 17)	50 (9-2.269)	970 (172-44.460)	2.913 (517-133.520)

Se indica el valor obtenido en base a la media de extracción y el rango de valores, en base a la máxima y a la mínima extracción de Cu por superficie en el tratamiento quelantes  
Fuente: elaboración propia

### 6.8.2. *B. linearis*

Para *B. linearis* no hubo efecto de la aplicación de tratamientos, por lo que el cálculo del número de ciclos necesarios para remediar un suelo permanece similar al inicial calculado (entre 74 y 11.050). Considerando este número de ciclos iniciales calculados, que estuvo en el orden de los milenios, el uso de *B. linearis* no es apto para generar una metodología atractiva para la gestión de suelos contaminados por Cu.

Cabe mencionar que la extracción por superficie promedio obtenida en el ensayo final (4,4 mg/m<sup>2</sup>/año) fue menor que la extracción por superficie promedio obtenida en el ensayo inicial que determinó el número de ciclos necesarios para remediar un suelo, sin mejoramientos (5,5 mg/m<sup>2</sup>/año).

### 6.9. Determinación de especie más eficiente en la remoción de cobre

Considerando solo los resultados obtenidos en este ensayo, no es posible deducir que una especie es más eficiente que otra en la extracción de Cu, ya que para *B. linearis* las enmiendas aplicadas no influyeron en su extracción, por lo que no es posible comparar sus extracciones “mejoradas” con las extracciones “mejoradas” obtenidas con la aplicación de quelantes en *O. picensis*.

Por otro lado, en ninguna de las dos especies se logró reducir el número de ciclos necesarios para remediar un suelo contaminado, a un período menor a 10 años, por lo que la fitoextracción en base a estas especies y los mejoramientos seleccionados, se considera inviable en condiciones reales.

### 6.10. Rechazo de la hipótesis de investigación

Dado que no fue posible reducir, mediante las estrategias de mejoramiento, el número de ciclos de cultivo de ninguna de las dos especies a un lapso <10 años, la hipótesis de investigación fue rechazada ya que no fue posible proponer una solución eficiente y sostenible para remediar a escala real los suelos contaminados por cobre de las comunas de Puchuncaví y Quintero exclusivamente con técnicas de fitorremediación. En consecuencia no corresponde desarrollar el objetivo n°7, es



decir la elaboración de la metodología de fitoextracción.

**CAPITULO VII**  
**DISCUSIONES**



### **7.1. Influencia de los problemas de funcionalidad metodológica sobre los resultados y conclusiones**

Es posible que algunos de los problemas de funcionalidad metodológica que se presentaron durante el desarrollo de la tesis, hayan influido significativamente sobre sus resultados.

Por ejemplo, el hecho de que en el ensayo 1 (sección 6.6.1), la pérdida del 60% de individuos por ramoneo haya impedido obtener conclusiones para *B. linearis*, pudo afectar significativamente los resultados finales, ya que, para poder ejecutar el ensayo final se extrapolaron los resultados obtenidos para *O. picensis* a *B. linearis*. Sin embargo, queda la duda de si alguna de las enmiendas evaluadas en el ensayo de enmiendas (cal o fertilizantes) tuvo en realidad efectos sobre la extracción de Cu por *B. linearis*, que no se pudieron verificar y por tanto no se pudieron probar, en el ensayo final.

Al respecto, si se hubiese contado con datos previos de ensayos controlados con *B. linearis* y adición de enmiendas, al menos se podrían haber extrapolado dichos resultados al ensayo final, ante el evento de pérdida de individuos en el ensayo en terreno. Sin embargo, no se habían realizado previamente ningún tipo de ensayo con la especie<sup>50</sup>. La extrapolación de los resultados de *O. picensis* a *B. linearis*, si bien era la única alternativa viable, no fue efectiva ya que en el ensayo final se corroboró que la materia orgánica no tuvo efectos sobre la extracción en *B. linearis*.

Asimismo el hecho de no haber podido reproducir individuo de *A. subfusiformis*, se desarrollan en perfectas condiciones en terreno, indica que es necesario probar otras formas de reproducción, en condiciones más controladas. Esto, dado que las características de la especie la hacían una buena candidata para el proceso de fitoextracción, que podría haber respondido bien a las estrategias de mejoramiento evaluadas.

Asimismo el uso del compost alcalino en el ensayo final probablemente influyó significativamente en los resultados del ensayo (sección 6.7). La alcalinidad del compost generó un efecto contrario al de los quelantes en el tratamiento quelante + compost, disminuyendo la disponibilidad del Cu que había aumentado por la adición del quelante. Probablemente un compost neutro habría generado un efecto sinérgico con el quelante aumentando la biomasa de las plantas (debido a la mayor retención de agua y aporte en nutrientes), sin disminuir la concentración del Cu disponible, lo que habría aumentado la extracción de Cu. Es probable que este aumento de la extracción pudiese haber disminuido el número de ciclos necesarios para remediar

---

<sup>50</sup> Al contrario para *O. picensis* si se contaba con información de ensayos preliminares (Muena et al., 2010).

un suelo, lo que tal vez habría afectado la evaluación final de la hipótesis de investigación.

Si bien no se consideró un problema ligado a la metodología planteada sino una limitante natural del territorio en el cual se desarrolló la tesis, la escasez de precipitaciones después del año 2008 (todas mucho más bajas de lo normal que corresponde a 290 mm, ver Figura 31), influyó claramente sobre los resultados, ya que la sobrevivencia y la producción de biomasa de *O. picensis* estuvieron ligadas a la disponibilidad de agua, disminuyendo drásticamente en el ensayo 1 en su etapa del 2009 y en el ensayo final, respecto del ensayo 1 en la etapa del 2008, a pesar de haber recibido irrigación hasta el establecimiento vegetal. Si bien para los cálculos del ensayo final no se consideró la baja sobrevivencia obtenida, extrapolando los resultados a un escenario con riego, con una sobrevivencia del 100%, de todas maneras la biomasa fue significativamente menor que en el ensayo inicial<sup>51</sup>. Esto claramente afectó los resultados finales de la tesis pues la mejora de la eficiencia de la extracción fue muy leve (solo un 15%). Probablemente en un escenario de precipitaciones similares a las ocurridas el año 2008, la mejora de la extracción habría sido mucho mayor.

Si bien siempre se pensó en que un proceso de fitoextracción, en base a las especies seleccionadas era posible bajo condiciones naturales (por el hecho de ser especies silvestres, aclimatadas a la escasez hídrica), la variación en las precipitaciones permitió comprender que la disponibilidad de agua es un factor limitante para el éxito de la fitoextracción y que probablemente es conveniente considerar el costo de irrigación, si se desea obtener altas extracciones, que permitan remediar un suelo en un período aceptable de tiempo.

El ramoneo de la especie leñosa *B. linearis* por parte de roedores también está probablemente ligada a la escasez hídrica debido a la escasez de material verde que les sirva como alimento. Esto puede prevenirse utilizando malla en cada individuo, sin embargo involucra un alto costo adicional<sup>52</sup>

## **7.2. Características físico-químicas de los suelos del área de estudio**

### **7.2.1. Concentración de Cu total**

Considerando las altas concentraciones totales de cobre en los suelos estudiados del área de estudio y la relación, previamente reportada, con la concentración de otros metales como As (ver 3.2.2.3), se puede afirmar que existe un impacto de la Fundición Ventanas sobre los suelos, tal como lo demostraron otros autores (Chiang et al., 1985; De Gregori et al., 2003). En base al valor background determinado por la consultora PGS Chile (2015) se podría decir que prácticamente todos los suelos muestreados están por sobre el valor normal en un suelo.

En el sitio A la determinación de las características físico - químicas en varias estratas, permitió corroborar que la mayor proporción de la contaminación se concentra en la estrata 0-5 cm, para luego diluirse en las estratas más profundas (Tabla 12), tal como lo reportó anteriormente Ulriksen et al. (2012) y anteriormente Ginocchio et al. (2004). Esto es otro indicador que demuestra el origen antrópico de las altas concentraciones de metal y la poca movilidad del metal en el perfil, debido a sus características intrínsecas y a la poca movilidad en general de los metales

---

<sup>51</sup> 2,1±1,3 mg/kg, en comparación al promedio del control en el ensayo inicial el año 2008, de 28±30 mg/kg.

<sup>52</sup> Aproximadamente U\$0,8/individuo en malla.

debido a las escasas precipitaciones.

Se observa además, por las amplias desviaciones estándar (principalmente en los sitios A y C, cuyos coeficientes de variación son de 0,8 y 0,51, respectivamente<sup>53</sup>), que existe una alta variabilidad microespacial del cobre, tal como lo reportó también Ginocchio et al. (2004) (ver sección 3.2.2.3). En el sitio B la desviación fue menor (coeficiente de variación 0.28), probablemente debido al hecho de que el agricultor por años removió y homogeneizó la tierra cada vez que pasaba el arado. La alta variabilidad microespacial del Cu total se relaciona tal como lo indicó Ginocchio (2004) a diferentes microambientes presentes en los sitios como bajo las canopias de arbustos, espacios abiertos, espacios con especies herbáceas, posiciones en la ladera, etc. (Figura 51).

### 7.2.2. pH

El pH del suelo que varió de “extremadamente ácido” a “ligeramente ácido” (según clasificación de Fassbender, 1987), presentó una variabilidad baja (coeficientes de variabilidad <0,2), tal como también lo registró Ginocchio et al. (2004) para la misma área. La acidez al igual que la concentración de Cu total, fue disminuyendo a mayores profundidades; sin embargo, a los 30 cm aún era “medianamente ácido” proyectándose que a mayores profundidades podría llegar a valores neutros. El hecho de que la acidez alcanzara mayores profundidades en relación a las concentraciones de Cu demuestra que los cationes se mueven en el perfil más que el Cu. El pH influyó sobre la disponibilidad de las fracciones disponibles de Cu, como se discute a continuación.

### 7.2.3. Fracciones disponibles de Cu

La alta concentración de cobre intercambiable en las primeras estratas de los sitios es consecuente con las altas concentraciones de Cu total. El Cu intercambiable presentó una amplia variación microespacial (coeficiente de variación 0.51 en la primera estrata) y una disminución de la concentración con la profundidad, ambos reportados antes por Ginocchio et al (2004). La variación microespacial del Cu intercambiable es consecuente con la variación del Cu total y además con la variación del pH. La concentración de Cu intercambiable estuvo relacionada significativamente con el pH del suelo ( $p=0,00$  y  $R^2$  entre 53 y 68% para los diferentes sitios).

Las altas concentraciones de Cu soluble en la primera estrata del sitio A son consecuentes con las altas concentraciones de Cu total en dicho sitio. Comparado a otros suelos contaminados por Cu en la región, por ejemplo Catemu (con 0,47 mg/L de Cu soluble en los primeros 20 cm de suelo, Ávila et al., 2007), las concentraciones de Cu soluble de este estudio son más altas. Esta diferencia puede deberse a la acidez que exhiben los suelos del presente estudio, al contrario de los del valle de Catemu, cuyo pH es neutro-básico. Dicha acidez, se traduce en un aumento de protones en la solución, los cuales se adhieren al complejo de cambio, permitiendo la liberación del Cu de los sitios de intercambio. A pH ácidos la materia orgánica se encuentra en estados más insolubles, por lo que no compleja al Cu, siendo este liberado (Mueña et al., 2010; Yu et al., 2002). Esto queda demostrado dado que el pH estuvo significativa e inversamente relacionado a la concentración de Cu soluble en este sitio ( $p=0,025$  y  $R^2=33\%$ ). Por otro lado, al igual que el Cu total e intercambiable, la concentración de Cu soluble presentó una alta variabilidad

---

<sup>53</sup> Desviación estándar/media. En ciencias biológicas se considera que un coeficiente de variabilidad >30% es alto

(coeficiente de variabilidad 0,6 en la primera estrata y mayor a estratas más profundas) y una disminución de la concentración en las estratas más profundas, consecuente también con lo reportado por Ginocchio et al. (2004).

La suma de las fracciones intercambiable y soluble conforma lo que en este estudio denominamos "Cu disponible". Esta fracción, en los primeros 15 cm, solo representó un 8-9% de la fracción total de Cu, lo que demuestra que una de las grandes limitantes para la remediación de un suelo es la disponibilidad de los contaminantes en el suelo.

El bajo  $pCu^{+2}$  ( $-\log [Cu \text{ libre}]$ ) hallado en los tres sitios fue consecuente con las altas concentraciones de Cu total pero fue más bajo en comparación a otros suelos contaminados por cobre de la región (por ejemplo, 7,9 en el valle de Catemu, Ávila et al. 2009). Este hecho, al igual que en el caso del Cu soluble, se debe a la acidez del suelo, que provoca la liberación del ion  $Cu^{+2}$ , mediante los mecanismos explicados anteriormente. El  $pCu^{+2}$  estuvo significativamente relacionado con el pH ( $p < 0,05$  y  $R^2 =$  entre 19,4 y 82% en los diferentes sitios). Las mediciones en profundidad realizadas en el sitio A (Tabla 12) demuestran que al igual que las otras fracciones, la actividad del Cu libre disminuye con la profundidad (aumenta el  $pCu^{+2}$ ).

#### 7.2.4. Macronutrientes y materia orgánica

La concentración de N fue altamente variable (coeficiente de variabilidad 0,40 y 0,44 en sitios A y B respectivamente) tal como lo observó Ginocchio et al (2004). Las concentraciones de P y K tuvieron una variabilidad menor (coeficiente de variabilidad entre 0,12 y 0,35).

En cuanto a la materia orgánica, esta presentó una alta variabilidad microespacial (coeficiente de variabilidad entre 0,5 y 0,6) exhibiendo porcentajes desde muy bajos a bajos (según clasificación de Fassbender, 1987).

### 7.3. Número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una superficie de suelo contaminado en el área de estudio, en base a la capacidad natural de extracción de las especies seleccionadas

El número de ciclos necesarios para remediar una superficie de suelos fue excesivamente alto, desde décadas para suelos pocos contaminados hasta milenios en los suelos más contaminados, tanto para *O. picensis* como para *B. linearis* especies (Tabla 17). Este orden de ciclos requerido es similar al obtenido con otras especies cultivadas sin tratamiento. Por ejemplo: para *Salix* sp. Ruttens et al., (2011) calcularon que eran necesarios entre 55 y 807 ciclos y para *Populus* sp., entre 133 y 592 ciclos, para descontaminar un suelo contaminado por Cd. Para *Atriplex halimus*, especie de gran producción de biomasa y alta acumulación de Cu (no hiperacumuladora), se calculó que serían necesarios entre 2500 a 7000 ciclos de cultivos para descontaminar un suelo con una concentración inicial de 900 mg/kg de Cu, hasta llegar a una concentración total de 50 mg/kg (Pérez-Esteban et al., 2013). Para todas estas especies se consideró inviable la fitoextracción como técnica de remediación, sin aplicar mejoramientos.

Cabe mencionar, como se aclaró en la metodología, que incluso el número de ciclos obtenidos probablemente esté subestimado. Esto, dado que la extracción de Cu en un período largo de tiempo por parte de una planta, no es estable. Al disminuir la biodisponibilidad año a año, la extracción también disminuye (Van Nevel, 2007).

No se conoce el patrón que sigue esta disminución ya que en cada caso el suelo alcanza nuevos equilibrios al perder parte de su Cu disponible, supliéndolo probablemente con parte del Cu absorbido en la materia orgánica o arcillas, pero se desconoce en qué medida. Esta dinámica no se puede predecir, sino que depende de cada sistema suelo-planta-clima. Por otro lado, si no se aplica ningún mejoramiento, la biomasa de las plantas también disminuirá con el tiempo, dado que se irán agotando los nutrientes del suelo.

En este estudio *O. Picensis* y *B. linearis* mostraron una acumulación de Cu mayor a la registrada en plantas normales, aunque no a nivel de hiperacumulación; además, su sobrevivencia y producción de biomasa fue baja, principalmente el segundo año de cultivo en condiciones naturales (2009).

Como se discutió en 7.1, en *O. picensis* la baja sobrevivencia y desarrollo de biomasa el año 2009 se debió probablemente al gran déficit hídrico que se desencadenó a partir de ese año (el año 2009 precipitó 142 mm en comparación a una media, en los 10 últimos años, de 290 mm). Aunque las plantas fueron regadas hasta su establecimiento, la escasez de lluvias y la textura arenosa de los suelos produjeron una alta mortalidad, así como una baja producción de biomasa en los individuos sobrevivientes, comparado al año anterior. El año 2008 tampoco puede considerarse un año normal ya que se registró un superávit de precipitaciones (415 mm en comparación a la media de los 10 últimos años de 290 mm, ver Figura 31). La variabilidad en la extracción obtenida para esta especie demuestra la alta relación que esta tiene con la disponibilidad de agua. Si se considerase un proceso de fitoextracción con aplicación de riego, la sobrevivencia podría llevarse al 100%. Lamentablemente se intentó instalar riego para el ensayo final, pero este fue sustraído en dos ocasiones, a pesar de tomarse medidas para evitarlo (bases de concreto y protecciones con fierro) lo que también refleja la precaria situación económica y sociocultural que viven los habitantes de la zona de Los Maitenes. Estos factores deben considerarse como limitantes clave al momento de realizar un proceso a gran escala.

En *B. linearis*, la baja sobrevivencia el segundo año se debió al ramoneo de roedores por las noches, lo que está ligado también a la escasez hídrica que generó una carencia de material verde. Se debe considerar este hecho como un factor limitante al momento de llevar a cabo un proceso de remediación a gran escala, y por ende incorporar al presupuesto estimado el costo de proteger cada uno de los individuos, al inicio de su desarrollo.

#### **7.4. Efecto de las estrategias de mejoramiento en la extracción de cobre en *Oenothera picensis* y *Baccharis linearis***

##### **7.4.1. Efecto de la aplicación de enmiendas agrícolas sobre la extracción de Cu en las especies estudiadas.**

No fue posible evaluar las enmiendas sobre *A. subfusiformis* pues esta especie no prosperó en condiciones de terreno, por lo que se decidió eliminarla de las posteriores evaluaciones. Es recomendable intentar medios de propagación vegetativa.

Las enmiendas aplicadas (cal y fertilizantes), si bien tuvieron efectos significativos sobre las propiedades del suelo relacionadas, es decir sobre el pH, la disponibilidad de Cu y sobre el nitrógeno disponible (no sobre K ni P para los cuales las concentraciones iniciales eran muy variables), no hubo un efecto de dichas propiedades sobre la extracción de Cu por las especies. En contraposición, en



ensayos realizados por la autora en condiciones controladas, se demostró que la adición de cal aumentaba la sobrevivencia de *O. picensis*<sup>54</sup> y la adición de nitrógeno aumentaba la extracción de Cu (Muena et al., 2010). El hecho de no observarse efectos de las variables edáficas sobre la extracción puede deberse al mayor efecto que tuvo la amplia variación de la materia orgánica sobre la extracción de Cu (variable que no se había evaluado en los ensayos preliminares controlados), que estadísticamente superó el efecto del encalado y del nitrógeno.

Si bien no se consideró a la materia orgánica como un tratamiento en el ensayo, su amplia variabilidad inicial en el suelo de la parcela experimental permitió observar una relación positiva y lineal entre el porcentaje de materia orgánica en el suelo y la extracción de Cu en *O. picensis* en el primer año de cultivo (2008). Este aumento de la extracción se debió específicamente al efecto de la materia orgánica sobre el aumento en la biomasa. Al respecto, Goecke et al. (2011) demostró en ensayos controlados en laboratorio, que el aumento de la biomasa debido a la adición de compost a suelos de la misma área de estudio (Los Maitenes) se debía al aumento de la capacidad de retención de agua del suelo. Este hallazgo permitiría explicar por qué el año 2009 no hubo relación entre la materia orgánica y la producción de biomasa. El déficit de precipitaciones y por lo tanto, la poca agua disponible en el perfil en ese año provocó que el efecto retenedor de agua de la materia orgánica no fuese relevante. Dado que en el año 2008, las precipitaciones fueron muy superiores a la media y en el año 2009 fueron muy inferiores a la media, no se pudo conocer el comportamiento de la biomasa de *O. picensis* en relación a la materia orgánica, en un año normal. Sin embargo, se decidió considerar a la adición de materia orgánica como estrategia de mejoramiento, ya que su efecto solo puede ser positivo para la extracción ya que mejora de la estabilidad estructural de los suelos y aporta nutrientes.

Para *B. linearis* no fue posible realizar un análisis de regresión con todos los tratamientos, dado que se perdieron todos los individuos de dos de ellos (fertilizante y cal + fertilizante). La pérdida de individuos en los tratamientos con fertilizantes probablemente obedece a una preferencia de los animales por hojas con mayor contenido de nitrógeno, lo que se traduce en mayor cantidad de aminoácidos libres (Mattson, 1980). El hecho de que los animales hayan traspasado los cercos en dos ocasiones, cavando incluso bajo ellos, indica que la especie es de alta preferencia de mamíferos silvestres y que cualquier instancia de fitoextracción a gran escala debería considerar un mayor presupuesto que el asociado a *O. picensis*, ya que se deberá contar con protección para prevenir la pérdida de individuos. También se debe considerar que, dejando de lado la pérdida por ramoneo, la especie fue capaz de soportar la escasez hídrica sin pérdidas, a diferencia de *O. picensis*, lo que evitaría gastos en riego en períodos de escasez hídrica, si se piensa en una aplicación a gran escala.

La decisión de probar en el ensayo final la adición de compost para ambas especies se tomó considerando que el efecto de materia orgánica sobre la retención de agua en *O. picensis* probablemente tendría efectos similares, aunque tal vez menos notorios, en *B. linearis* (por ser una especie semi-leñosa).

#### 7.4.2. Estado fenológico de máxima concentración de Cu en la biomasa aérea de las especies estudiadas

Para especies herbáceas, las mayores extracciones se dan en el estado de

---

<sup>54</sup> Clasificada erróneamente en ese estudio como *O. affinis*

floración y fructificación para *O. picensis* y *A. subfusiformis* respectivamente (estado reproductivo). Estos resultados son consecuentes con otros estudios similares realizados en otras especies y metales. Por ejemplo, para la especie herbácea *Arrhenatherum elatius* en un período de 7 meses, encontrándose, al igual que en esta evaluación temporal, que las máximas extracciones de cadmio y zinc se daban en el estado de floración (Deram et al, 2016).

Para *B. linearis* no se detectaron diferencias entre estados fenológicos. Probablemente esto se debe a que los cambios en la biomasa y concentración de Cu para esta especie, al ser semi-leñosa, no se dan entre estados fenológicos sino entre diferentes “edades” del arbusto. En terreno no fue posible diferenciar más que entre individuos juveniles y adultos por el volumen de la planta.

El hecho de que faltasen repeticiones en algunos estados fenológicos, impidiendo realizar adecuadamente la estadística para algunos estados fenológicos, indica que la determinación del estado fenológico debió hacerse *in-situ* al momento de muestreo, y no en gabinete, pudiendo así prospectar en el momento más individuos en los estados faltantes. Por otro lado, aunque se escogió un sitio que comparativamente tuviese baja variabilidad de Cu total y sus fracciones, la inherente alta variabilidad microespacial (Ginocchio et al., 2004) de las características edáficas, unido a la variabilidad genética propia de los individuos de la comunidad vegetal, pudo afectar la precisión de las conclusiones. Esto se refleja en el hecho de que se observaron altas desviaciones estándar en la mayoría de los estados fenológicos (coeficiente de variabilidad de hasta 0,61), que impidieron observar diferencias significativas entre ellos. No es posible saber si dicha variabilidad responde a la variabilidad propia de los individuos o a las diferencias entre los suelos en los cuales estos crecían. Para evitar estas incertidumbres, probablemente lo más adecuado habría sido cultivar las especies en condiciones controladas en suelos homogeneizados<sup>55</sup>. Sin embargo, se han encontrado estudios similares al presente, realizados también en condiciones de campo en especies acumuladoras de diferentes metales. Por ejemplo para *Cynodon dactylon* y *Panicum repens* en, Egipto, se evaluó la acumulación de diferentes metales en distintas temporadas (Shaltout et al., 2013) y para *Astragalus bisulcatus* y *Stanleya pinnata*, en Fort Collins, USA, se evaluó la acumulación de Se en dos temporadas (2004-2005) muestreando las especies mensualmente en un sitio previamente seleccionado, tal como se hizo en este estudio (Galeas, 2007).

Parte de estos resultados fueron publicados en el artículo: González, I., Muenza, V., Cisternas, M. & Neaman, A. (2008). Acumulación de cobre en una comunidad vegetal afectada por contaminación minera en el valle de Puchuncaví, Chile central. Revista Chilena de Historia Natural, 81(2), 279-291.

#### 7.4.3. Efecto de la adición de quelante al suelo, en la extracción de cobre en las especies estudiadas.

Los resultados indicaron un efecto significativo de la adición de 6 o 10 mmol/planta de MGDA aumentando la producción de biomasa en *O. picensis*. Se ha demostrado que el efecto de la adición de quelantes sobre el aumento o disminución de la producción de biomasa depende principalmente de la tolerancia de las especies, de la cantidad de metales movilizados y del tipo de quelante utilizado. Para algunas especies sensibles a metales, la adición de quelantes en suelos contaminados, causa una disminución significativa en la biomasa, debido a la

---

<sup>55</sup> La decisión de realizar un muestreo en terreno se tomó en base a la orientación de la revista en la cual se buscaba posicionar el artículo generado (Revista Chilena de Historia Natural), revista que solo acepta prospecciones en campo, no ensayos controlados.

toxicidad por el aumento de las fracciones disponibles de los metales. Por ejemplo en *Brassica oleracea*, *Vigna radiata* y *Triticum sp* expuestas a 3 mmol/planta de EDTA en un suelo contaminado por Pb se registró una disminución significativa de la biomasa (Shen et al., 2002). En otras especies, con mayor tolerancia, la adición de quelantes no causa efectos o incluso aumenta la biomasa. Por ejemplo, en vetiver (*Vetiveria zizanioides*) se registró un aumento de la biomasa luego de la aplicación de HEDTA en un suelo contaminado por Pb. Otros estudios han demostrado que las mismas especies expuestas a ciertos tipos de quelantes sufren una disminución de su biomasa mientras que expuestas a otros quelantes, degradables, no sufren tales efectos. Por ejemplo, en *Brassica juncea* expuesta a contaminación por Cu, Pb, Zn y Cd, con una adición de 5 mmol/kg de EDTA (quelante considerado más tóxico), se registró una disminución significativa de la biomasa. Sin embargo, al adicionar la misma cantidad de EDDS al suelo, la biomasa no varió y al adicionar ácidos húmicos, la biomasa aumentó. En el mismo ensayo, la biomasa de *Helianthus annuus*, especie considerada tolerante, no fue afectada por ningún quelante (Lee & Sung, 2014). En consecuencia, en el caso de *O. picensis*, el aumento de la biomasa pudo deberse a que la especie, si bien no puede considerarse metalófito, presenta una tolerancia levemente mayor a lo normal (González et al., 2015), y a la vez a que el quelante utilizado (MGDA) no presenta toxicidad por sí mismo al ser un quelante altamente biodegradable.

El aumento de la concentración de cobre foliar con la adición de quelante era esperable dado el significativo aumento de las fracciones disponibles de Cu. Los leves síntomas de toxicidad (clorosis) no afectaron el crecimiento de la planta. Sería recomendable evaluar dosis mayores de quelantes para determinar hasta qué dosis se genera un mayor aumento de la extracción y en qué punto la toxicidad generada por el aumento de la disponibilidad de Cu comienza a afectar negativamente a la extracción. El aumento de la extracción en el tratamiento de 6 o 10 mmol/planta fue de 13 veces respecto del control, lo que, proyectado a una superficie, disminuye significativamente el número de ciclos necesarios para remediar un suelo contaminado.

#### 7.4.4. Aumento y homogenización de la capacidad de extracción de Cu mediante selección fenotípica de individuos de *O. picensis*

La técnica de mejoramiento genético de la capacidad de extracción mediante selección fenotípica no dio resultado en ninguna de las dos especies herbáceas. En *A. subfusiformis* la estrategia no dio resultado debido a que la especie no sobrevivió el primer ciclo de cultivo, al igual que sucedió en los otros ensayos, por lo que la especie se descartó del estudio. Para *O. picensis*, en la semilla seleccionada obtenida de la autopolinización del primer ciclo, se observó una baja germinación y aquellos individuos que germinaron, murieron al poco tiempo de desarrollo. Este fenómeno se conoce como “depresión por endogamia” y ha sido reportado tanto para especies de polinización cruzada como para especies que presentan cierto grado de autopolinización natural (Charlesworth et al., 1994). El fenómeno se caracteriza por una baja germinación y disminución de la adaptabilidad (vigor) lo que provoca, en algunos casos, la muerte de los individuos en etapas tempranas de desarrollo (Henríquez, 2004; Gómez et al., 2010). Se debe aclarar que no existía información relacionada a los efectos de la autopolinización en esta especie, que permitiera prever este efecto, sino solamente algunas citas de antigua data y una comunicación personal con un experto que indicó que *O. picensis* tenía naturalmente un alto % de autopolinización, por lo que se pensó que respondería bien a la inducción de la autopolinización.

#### 7.4.5. Selección, por especie, de las estrategias de mejoramiento de la extracción más eficientes

En esta etapa, la selección de los tratamientos eficientes para *O. picensis* fue simple, ya que respondió a los resultados obtenidos en los ensayos. Para *B. linearis* no fue lo mismo, ya que en el ensayo de enmiendas no se obtuvieron conclusiones claras y el ensayo de quelantes no se realizó para esta especie. Considerando que los efectos sobre el suelo, de ambos mejoramientos, fueron comunes para ambas especies (aumento de la capacidad de retención de agua por la presencia de materia orgánica y aumento de la disponibilidad de Cu en el suelo por la adición de quelantes) y que dichos efectos deberían influir en algún grado en la extracción de *B. linearis*, se decidió probar los mismos tratamientos exitosos para *O. picensis*, en *B. linearis*, en conjunto y por separado, en el ensayo final.

#### 7.5. Efecto combinado de las estrategias de mejoramiento seleccionadas sobre la extracción de cobre en las diferentes especies en estudio

Aunque el muestreo final de suelos se hizo tres meses después de la última aplicación de quelante<sup>56</sup>, aún se pudieron observar efectos de la adición de quelante en la concentración del Cu intercambiable en el suelo. Si se compara con el ensayo controlado, donde el Cu intercambiable aumento 4 veces en relación al control luego de la aplicación del quelante, el efecto es mucho menor (aumento de solo 1,8 veces en relación al control), lo que probablemente fue influido por el tiempo transcurrido hasta el muestreo (en el ensayo controlado fue solo 1 mes, Gráfico 17).

El aumento del Cu intercambiable se debe a que la molécula orgánica del quelante atrapa en su estructura a las fracciones disponibles de Cu (formando un complejo metal-orgánico), disminuyendo su concentración en la solución. Esto provoca la desorción del Cu absorbido a los sitios de intercambio, los cuales se unen también a la molécula, hasta su saturación. En la mayoría de los casos la mayor parte del Cu disponible queda atrapado en la molécula del quelante, quedando muy poco Cu libre en la solución (Blaylock et al., 1997). Es por esto que se observó que el  $pCu^{+2}$  no varió significativamente entre los tratamientos control y quelante (o probablemente aumentó levemente pero volvió rápidamente a la normalidad).

La adición de compost en el ensayo final influyó sobre la concentración de P y K pero no sobre el N ni la materia orgánica. Esto probablemente se debe a la alta variabilidad inicial de las variables de fertilidad (coeficiente de variabilidad entre 10-51% para N; 2-33% para materia orgánica). Paralelamente, con la adición del compost, el pH aumentó y las fracciones disponibles de Cu se redujeron significativamente. Esto se debió a que el compost fue estabilizado con la adición de cal por lo que su pH era ligeramente alcalino (no se informó al momento de adquirirlo ya que anteriormente se había adquirido y su pH había sido neutro). La alcalinidad provocó la sorción de las fracciones disponibles a los sitios de intercambio del suelo. Incluso en el tratamiento de compost + quelante, el efecto de la alcalinidad en el aumento de la retención fue más fuerte que el efecto de desorción del quelante, observándose una disminución de las fracciones disponibles a un 11% del valor en el control. De hecho, Hasuer (2003) demostró que la eficiencia de varios quelantes disminuía en general con el aumento del pH (el grado de disminución dependía del quelante), porque el calcio entra en la competencia por las posiciones de cambio. Sin embargo como se mencionó en el párrafo anterior, debe considerarse que el

<sup>56</sup> En los ensayos preliminares a los ensayos controlados de quelantes, se determinó que el Cu soluble volvía a la normalidad en un lapso de 30-50 días. Ver sección 5.4.3.3.

muestreo fue tres meses después de la última aplicación del quelante, lo que probablemente influyó en que el efecto del quelante haya disminuido significativamente (ya que el compuesto se degrada en 14 días aproximadamente). Se deberían realizar nuevos ensayos para corroborar si inmediatamente después de aplicar el quelante su efecto es contrapesado por el aumento del pH que causa la adición del compost alcalino, y en qué medida.

En cuanto a los efectos de los tratamientos aplicados sobre la extracción, si bien no hubo diferencias significativas en la extracción de Cu, entre tratamientos, para ninguna de las dos especies, el análisis de regresión arrojó que, en *O. picensis* la biomasa aérea se relacionó significativamente con la materia orgánica del suelo y la concentración de cobre foliar se relacionó significativamente con la concentración de Cu intercambiable en el suelo. Consecuentemente la extracción en *O. picensis* se relacionó significativamente con la materia orgánica y el Cu intercambiable. Aunque en base a esto podría esperarse que las mayores extracciones en *O. picensis* se hubiesen observado en el tratamiento de compost + quelante, según los resultados, el Cu intercambiable en el tratamiento compost + quelante fue muy bajo por el efecto del compost alcalino (arriba explicado). En cambio, la media de extracción del tratamiento quelante, si bien no fue significativamente diferente del resto de los tratamientos (por la alta variabilidad), fue mayor que el resto de los tratamientos (6,6 veces la media del control). Los mayores valores de extracción se obtuvieron en aquellos suelos donde se aplicó quelante y la materia orgánica era alta antes de la aplicación del compost (comparativamente alta, sobre 2%). Hubo excepciones en casos donde la materia orgánica era muy alta y el Cu intercambiable era bajo, pero la mayor presencia de materia orgánica compensó los efectos de la aplicación de compost alcalino.

Se podría deducir que la adición de compost no alcalino (neutro) permitiría aumentar la materia orgánica sin disminuir el Cu intercambiable, lo que permitiría un efecto sinérgico entre ambos tratamientos. Sin embargo, limitándose a los resultados de este ensayo, el tratamiento más exitoso fue el de adición de quelantes, en suelos con alta materia orgánica inicial (>2%).

Cabe destacar que el promedio de extracción por planta en el tratamiento control en el ensayo final fue de 0,42 mg/planta en comparación con el promedio de extracción en la determinación inicial de ciclos necesarios para remediar un suelo, que fue de 1,55 mg/planta (ver sección 6.4.5), bajo las mismas condiciones. La diferencia entre ambas determinaciones probablemente tiene que ver con las precipitaciones. Mientras el valor inicial determinado fue el promedio de un año muy lluvioso (2008, 415 mm) y un año seco (2009, 142 mm), el valor obtenido en el tratamiento control en el ensayo final, realizado el año 2011 fue solo el promedio de un año seco (167 mm). La disponibilidad hídrica afectó directamente la producción de biomasa así como la sobrevivencia en *O. picensis*. La escasez de precipitaciones (190-150 en los años del ensayo, en relación a 290 en un año normal, Figura 31), se debe en parte al fenómeno de la niña que se dio en ese período.

Teniendo lo anterior en cuenta, para el cálculo de la extracción por superficie en *O. picensis* en este ensayo final, no se consideraron los valores de sobrevivencia. Se consideró un escenario bajo riego, donde la sobrevivencia probablemente sería cercana al 100% (no fue posible proyectar la mayor producción de biomasa, solo la sobrevivencia). Si los cálculos se hubiesen realizado en base a la sobrevivencia real obtenida, los valores de extracción habrían sido muy bajos (promedio  $1,3 \pm 1,94$  mg/m<sup>2</sup>/año), más bajos que el determinado inicialmente para la especie sin estrategias de mejoramiento ( $8,5 \pm 14$  mg/m<sup>2</sup>/año). No sucedió lo mismo con *B. linearis* donde la sobrevivencia fue de un 100% a pesar del déficit de precipitaciones.

Para *B. linearis* no hubo efecto de los tratamientos, dependiendo su extracción solo de la concentración de Cu total en la estrata 15-30 cm. Esto indica que no fue efectiva la hipótesis de que las estrategias de mejoramiento que dieron resultado sobre *O. picensis* en la primera etapa tuviesen resultados similares sobre *B. linearis*. Esto puede deberse principalmente al carácter semileñoso de esta especie, que la hace tener un crecimiento radical más profundo, por tanto la adición de materia orgánica en los primeros 5 cm de suelo no la afectó y tampoco la adición de quelantes, cuyo mayor efecto fue en la estrata 0-15 cm.

Se hizo una prueba exploratoria podando los individuos de *Baccharis* anualmente para evaluar si la extracción total de Cu obtenida era mayor o menor a la obtenida al cortar los individuos cada dos años. Los resultados indicaron que las extracciones anuales no difieren significativamente entre ambas técnicas de cosecha. En terreno se observó además, que luego de la poda fuerte, las plantas crecieron con mayor vigor al siguiente año, por lo que es una estrategia recomendable para evitar el trasplante anual de individuos y tal vez obtener mayores producciones de biomasa.

#### **7.6. Estrategias más eficientes para el aumento de la extracción**

En base a los resultados y a lo discutido en la sección anterior se puede deducir que para *O. picensis* el tratamiento más efectivo en aumentar la extracción fue la aplicación del quelante MGDA (6-10 mmol/planta).

Para *B. linearis* no fue posible determinar una estrategia más eficiente ya que en el ensayo final ningún tratamiento tuvo efecto sobre la extracción de Cu por esta especie, dependiendo solo de la concentración de Cu total en el suelo.

#### **7.7. Número de ciclos de cultivo para remediar un suelo, en base a las estrategias más eficientes seleccionadas**

Para *O. picensis*, el nuevo cálculo de ciclos de cultivo necesarios para remediar un suelo, en base a los resultados obtenidos de la adición de quelantes (y considerando una sobrevivencia del 100%), arrojó una disminución promedio del número de ciclos necesarios para remediar un suelo, de solo un 15%. El nuevo número de ciclos promedio necesario para remediar un suelo contaminado estuvo en un rango entre 17 y 53.408 ciclos, dependiendo del valor inicial de Cu en el suelo. Esta magnitud de número de ciclos hace claramente inviable un proceso exclusivo de fitoextracción basado en esta especie con estas estrategias de mejoramiento. Ni siquiera considerando dos ciclos al año (que podrían forzarse con riego), se obtienen magnitudes atractivas en términos de gestión.

Cabe mencionar que si se hubiese considerado el porcentaje de sobrevivencia real, el número de ciclos necesarios para remediar una superficie habría sido mayor.

Para *B. linearis*, dado que las estrategias de mejoramiento no tuvieron efecto, el número de ciclos calculados inicialmente se mantienen, estando en una magnitud de milenios, que al igual que para *O. picensis*, se considera inviable para una iniciativa de remediación a escala real.

Cabe mencionar además, lo discutido en el punto 7.3 acerca de la subestimación de ciclos necesarios para remediar un suelo, debido a la asunción de

una extracción contante de Cu a lo largo de los años. Esto significa que los ciclos necesarios podrían incluso ser más que los calculados.

Por otro lado cabe mencionar una vez más que la influencia de la escasez hídrica pudo influir significativamente sobre los resultados. Probablemente en un escenario de mayores precipitaciones los resultados habrían sido mejores (aunque no se puede estimar en base a los datos disponibles).

### **7.8. Especie más eficiente en la extracción de Cu**

No fue posible diferenciar entre la eficiencia de ambas especies una vez aplicados las estrategias de mejoramiento dado que para *B. linearis* no se seleccionaron estrategias de mejoramiento eficientes. Además, ninguna de las especies en combinación con estrategias de mejoramiento permitió disminuir el número de ciclos necesarios para remediar un suelo contaminado a un período menor a 10 años, por lo que ninguna fue considerada eficiente en la remoción de Cu.

### **7.9. Hipótesis de investigación**

Dados los resultados obtenidos y las discusiones expuestas se debe concluir que la hipótesis de investigación se rechaza, dado que no fue posible obtener una metodología de remediación de suelos apta para ser aplicada a escala real, dado que su tiempo de remediación es demasiado largo.

En consecuencia no se hace pertinente continuar con las etapas siguientes de la tesis que correspondían al establecimiento de los requerimientos técnico-económicos del proceso de fitoextracción, y la elaboración de una guía de aplicación *in situ* a gran escala.

### **7.10. Proyecciones y recomendaciones futuras**

Considerando los resultados generales obtenidos al aplicar las estrategias de mejoramiento, es posible identificar algunos futuros focos de investigación que permitirían clarificar dudas o mejorar los resultados de esta experiencia:

- Si bien la adaptación de las plantas al sitio a remediar es un factor clave en el éxito de la remediación, las bajas acumulaciones de Cu presentadas en las especies evaluadas, fueron un punto negativo en el cumplimiento del objetivo de la tesis. Se recomienda prospectar especies en vetas mineras, que pudiesen tener más capacidad de extracción natural y evaluar su adaptabilidad al clima costero de Puchuncaví-Quintero.
- Paralelamente se sugiere evaluar especies energéticas, en la fitoextracción. Al respecto en el sector de Los Maitenes aún permanecen los cultivos de tuna, que ha sido capaz de resistir la contaminación metálica y la acidez del suelo. Este cultivo no requiere ningún manejo y produce una cantidad considerable de biomasa.
- Proyectando el proceso de fitoextracción a gran escala y dadas las características del área más contaminada, del área de estudio, que corresponde a paleodunas estabilizadas, donde el viento transporta los contaminantes, es recomendable prospectar también especies metalófitas excluyentes arbóreas, que sirvan para establecer barreras físicas a la dispersión de la contaminación, en las áreas donde se esté desarrollando procesos de fitoextracción.
- Dado que la contaminación en Puchuncaví es polimetálica, siendo de especial preocupación el As (aunque en pH ácido se encuentra inmóvil), se

- recomienda analizar la extracción de otros metales en investigaciones futuras.
- Dado que *A. subfusiformis* no prospero en la reproducción por semillas, se recomienda prospectar otras formas de reproducción. Esto, porque la especie además de producir una cantidad considerable de biomasa, tenía otras características fisiológicas deseables para la fitoextracción, como el poseer espinas y una savia de aroma muy fuerte, que ahuyenta a herbívoros y por tanto evitaría, en una instancia de remediación a gran escala, el paso de los metales a la cadena trófica.
  - Se sugiere evaluar el efecto de hongos micorrízicos sobre la extracción, como una nueva estrategia, ya que, como se mencionó en el estado del arte, se ha demostrado su efecto sobre la extracción y protección de determinadas plantas y además en el área de estudio ya se ha demostrado su presencia asociada a *O. picensis* y otras especies y su rol de aliviar la toxicidad (sección 2.2.1.1.).
  - Se sugiere considerar un sistema de riego, ya que la variabilidad anual de la extracción basal de *O. picensis* permitió establecer una directa relación entre la sobrevivencia y la producción e biomasa, con la disponibilidad de agua en el perfil. Además, se hace muy difícil obtener conclusiones a partir de ensayos realizados bajo distintas condiciones de precipitaciones anuales.

Acerca de la estrategia de adición de enmiendas:

- Se sugiere, tal como se hizo con *O. picensis* probar el efecto de las enmiendas sobre *B. linearis* en condiciones controladas, antes de llevarlo a terreno.

Acerca de la estrategia de adición de quelantes

- Si bien no se pudo realizar el ensayo para *B. linearis* por aspectos logístico-económicos, sería recomendable realizarlo, ya que la extrapolación de los resultados de *O. picensis* a *Baccharis linearis* no fue efectiva, pues en el ensayo final los quelantes no tuvieron efecto sobre la extracción en esta especie. Probablemente *B. linearis*, por su naturaleza leñosa tiene una respuesta más lenta ante el aumento de disponibilidad del Cu requiriendo otras dosis y tiempos de aplicación diferentes de *O. picensis*.
- Dados los positivos resultados obtenidos de la adición de quelantes, se sugiere probar con concentraciones mayores de quelantes para evaluar la dosis donde se produce la máxima extracción (máxima producción de biomasa y concentración de Cu en la biomasa aérea), determinando también en qué punto la alta concentración de Cu disponible genera toxicidad en la planta (disminución de la biomasa y otros síntomas). Esto debería ir acompañado de un nuevo estudio de la lixiviación de Cu o nutrientes en el perfil del suelo.

En relación al ensayo final:

- Se recomienda realizar una nueva evaluación con aplicación de compost no alcalino (se debe corroborar sus características al momento de adquirirlo), que permita evaluar la verdadera sinergia entre ambas estrategias de mejoramiento seleccionadas.
- Se recomienda probar los tratamientos con un sistema de riego, que permita a las especies expresar mayor cantidad de biomasa. Se debe mencionar que en la etapa de ensayos controlados con quelantes se simuló un riego día por medio de 100 mL, que no provocó lixiviación a las capas más profundas.



## 7.11. Bibliografía específica

Charlesworth, D., Lyons, E. E. & Litchfield, L. B. (1994). Inbreeding Depression in Two Highly Inbreeding Populations of *Leavenworthia*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 258(1353), 209-214.

Chiang, J., Comejo, P., López, J., Romano, S., Pascual, J. & Cea, M. (1985). Determinación de cadmio, cobre, manganeso, plomo, hierro, zinc y arsénico en sedimento atmosférico, en la zona de Quintero, Chile. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 30, 139-158.

De Gregori, I., Fuentes, E., Rojas, M., Pinochet, H. & Potin-Gautier, M. (2003). Monitoring of copper, arsenic and antimony levels in agricultural soils impacted and non-impacted by mining activities, from three regions in Chile. *Journal of Environmental Monitoring*, 5, 287-295.

Deram, A., Denayer, F. O., Petit, D. & Van Haluwyn, C. (2006). Seasonal variations of cadmium and zinc in *Arrhenatherum elatius*, a perennial grass species from highly contaminated soils. *Environmental Pollution*, 140(1), 62-70.

Galeas, M. L., Zhang, L. H., Freeman, J. L., Wegner, M. & Pilon-Smits, E. A. H. (2007). Seasonal fluctuations of selenium and sulfur accumulation in selenium Hyperaccumulators and related nonaccumulators. *New Phytologist*, 173(3), 517-525.

Ginocchio, R., Carvallo, G., Toro, I., Bustamante, E., Silva, Y. & Sepúlveda, N. (2004). Micro-spatial variation of soil metal pollution and plant recruitment near a copper smelter in central Chile. *Environmental Pollution*, 127(3), 343-352.

Goecke, P., Ginocchio, R., Mench, M. & Neaman, A. (2011). Amendments promote the development of *Lolium perenne* in soils affected by historical copper smelting operation. *International Journal of Phytoremediation*, 13(6), 552-566.

Gómez Jiménez, D. M., Ramírez Herrera, C., Jasso Mata, J. & López Upton, J. (2010). Variación en características reproductivas y germinación de semillas de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. *Revista fitotecnia mexicana*, 33, 297-304.

González, I. & Neaman, A. (2015). Evaluación de la tolerancia al cobre de dos poblaciones de *Oenothera picensis* Phil. subsp. *picensis* (Onagraceae). *Gayana Botánica*, 72, 240-249.

Hauser, L. (2003). Extraction of Zinc, Copper and Lead from Polluted Soils by [S,S']-Ethylenediamine Disuccinic Acid. Institute of Terrestrial Ecology, Swiss Federal Institute of Technology Zurich. Zurich, Suiza. 99 pp.

Henríquez, C. A. (2004). Efecto de la fragmentación del hábitat sobre la calidad de las semillas en *Lapageria rosea*. *Revista Chilena de Historia Natural*, 77, 177-184.

Lee, J. & Sung, K. (2014). Effects of chelates on soil microbial properties, plant growth and heavy metal accumulation in plants. *Ecological Engineering*, 73, 386-394.

Mattson, W. J., Jr. (1980). Herbivory in Relation to Plant Nitrogen Content. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11, 119-161.

Muena, V., González, I. & Neaman, A. (2010). Efectos del encalado y la fertilización nitrogenada sobre el desarrollo de *Oenothera affinis* en un suelo afectado por la minería del cobre. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(2), 102-114.

Pérez-Esteban, J., Escolástico, C., Ruiz-Fernández, J., Masaguer, A. & Moliner, A. (2013). Bioavailability and extraction of heavy metals from contaminated soil by *Atriplex halimus*. *Environmental and Experimental Botany*, 88, 53-59.

Rioja, A. (2.002), *Apuntes de Fitotecnia General*, E.U.I.T.A., Ciudad Real.

Ruiz, R. (2001). Nutrición vegetal, fertilizantes y fertilización. In: *Sociedad Química y Minera de Chile S.A (Ed), Agenda del Salitre* (pp. 175-196). Santiago, Chile. *Sociedad Química y Minera de Chile S.A.*

Ruttens, A., Boulet, J., Weyens, N., Smeets, K., Adriaensen, K., Meers, E., Van Slycken, S., Tack, F., Meiresonne, L., Thewys, T., Witters, N., Carleer, R., Dupae, J. & Vangronsveld, J. (2011). Short rotation coppice culture of willows and poplars as energy crops on metal contaminated agricultural soils. *International Journal of Phytoremediation*, 13 (1), 194-207.

Shaltout, K., Galal, T. & El-Komi, T. (2013). Nutrients and heavy metals accumulation in the aboveground biomass of two perennial grasses along the water courses of Nile Delta, Egypt. *Egypt, 3rd international conference, Cairo, Egypt.*

Ulriksen, C., Ginocchio, R., Mench, M. & Neaman, A. (2012). Lime and compost promote plant re-colonization of metal polluted, acidic soils. *International Journal of Phytoremediation*, 14, 820-833.

Yu, S., He, Z. L., Huang, C. Y., Chen, G. C. & Calvert, D. V. (2002). Adsorption-desorption behavior of copper at contaminated levels in red soils from China. *Journal of Environmental Quality*, 31(4), 1129-1136.



**CAPITULO VIII**  
**CONCLUSIONES**



## 8.1. Conclusiones parciales

Las conclusiones parciales se entregan en el orden de los objetivos específicos de la tesis

1. Conocer todas las posibles estrategias de biorremediación a aplicar en la gestión de una amplia área contaminada por cobre

Este objetivo se cumplió a cabalidad ya que, gracias a la detallada revisión bibliográfica realizada del estado del arte de la biorremediación de suelos contaminados, fue posible seleccionar con fundamentos sólidos la técnica de fitoextracción, así como las técnicas de mejoramiento que se desarrollaron en la tesis.

2. Conocer el comportamiento del cobre y sus distintas fracciones en el área de estudio

Gracias a las diferentes estrategias de mejoramiento aplicadas al proceso de fitoextracción, la mayor parte de ellas aplicadas al suelo, fue posible conocer el comportamiento de las diferentes fracciones de Cu en condiciones naturales en los suelos del área de estudio y su respuesta y desplazamiento en el perfil, ante intervenciones externas.

3. Determinar para las especies acumuladoras de Cu *Oenothera picensis*, *Argemone subfusiformis* y *Baccharis linearis* el número de ciclos de cultivo necesarios para remediar una unidad de superficie de suelo contaminado en Puchuncaví y Quintero hasta niveles que impliquen un riesgo aceptable para el ser humano y el medio ambiente.

Se logró este objetivo, determinando en el inicio de la tesis, y en base a las capacidades naturales de extracción de la especie, el número de ciclos necesarios para remediar una superficie de suelo contaminado con diferentes concentraciones de Cu disponible inicial, los cuales estuvieron en una magnitud de décadas a milenios, lo que hacía impensable un proceso de fitoextracción sin aplicar mejoramientos. Cabe mencionar que el objetivo se cumplió para *B. linearis* y *O. picensis* dado que *A. subfusiformis* no prosperó en su desarrollo en este ni en ninguno de los ensayos posteriores.

4. Seleccionar estrategias de mejoramiento que aumenten significativamente la extracción de cobre en *Oenothera picensis*, *Argemone subfusiformis* y *Baccharis linearis*.

Este objetivo se cumplió a cabalidad para *O. picensis*, y parcialmente para *B. linearis* ya que para esta última especie no fue posible obtener resultados de dos de los 4 ensayos de evaluación estrategias de mejoramiento. Por otro lado, se descartó desde un inicio la especie *Argemone subfusiformis* debido a su dificultad de propagación y alta tasa de mortalidad durante los diferentes ensayos.

En relación a cada estrategia de *mejoramiento*:

- a) Identificar enmiendas agrícolas que permitan aumentar la extracción de Cu en las especies estudiadas.

Se determinó que la aplicación de materia orgánica (5-7%) aumentó significativamente y en 5,5 veces la extracción de Cu en *O. Picensis*. En *B. linearis* no se obtuvieron resultados claros debido a la pérdida importante de individuos (ramoneo) que impidió realizar un análisis estadístico. Ante este escenario se decidió

seleccionar el mismo tratamiento seleccionado para *O. picensis* para *B. linearis*, para ser evaluado en el ensayo final.

- b) Identificar el estado fenológico en que las especies estudiadas presentan la mayor concentración de cobre en la parte aérea (momento ideal de cosecha).

En cuanto a la determinación del momento ideal de cosecha, para *O. picensis* se determinó que el estado fenológico ideal de cosecha era el período reproductivo (floración) ya que en este momento se concentra la mayor cantidad de Cu en la biomasa aérea; para *B. linearis* no se detectó un estado fenológico en que la extracción de Cu fuese significativamente mayor a otro.

- c) Determinar el efecto de la adición de un quelante biodegradable al suelo, sobre la solubilidad del Cu y su extracción por parte de *O. picensis*.

En cuanto a la adición de un quelante biodegradable, probado en condiciones controladas para *O. Picensis*, se demostró que una dosis de 6 o 10 mmol/planta de MGDA tuvo un efecto positivo significativo en la extracción de Cu, aumentándola 5 veces en relación al control. Si bien en *B. linearis* no se probó la adición de quelantes en condiciones controladas debido a restricciones operativas, dados los resultados positivos sobre *O. picensis*, se decidió seleccionar para *B. linearis* esta estrategia de mejoramiento para el ensayo final.

- d) Obtener mediante selección fenotípica, semilla de individuos fenotípicamente homogéneos con una media de extracción de cobre mayor que la población original, para cada especie.

El mejoramiento genético fue evaluado solo en *O. picensis* ya que *A. subfusiformis* se descartó al inicio del proceso metodológico y *B. linearis* es una especie dioica. El proceso no fue exitoso ya que, luego de la autopolinización, los individuos provenientes de las semillas seleccionadas sufrieron de pérdida de adaptación (depresión endogámica), muriendo al poco tiempo.

- e) Seleccionar para cada especie las estrategias de mejoramiento más eficientes

Se logró seleccionar para *O. picensis* tres estrategias que mejoraron la extracción de Cu por esta especie: la adición de un quelante biodegradable y de materia orgánica en conjunto con la cosecha en estado de floración. Para *B. linearis* no fue posible obtener resultados claros para dos de las estrategias, por lo que se decidió probar en el ensayo final, las mismas estrategias que para *O. picensis*.

- 5. Identificar la combinación entre estrategia(s) seleccionada(s) y especie que logren la mayor eficiencia en la remoción de cobre.

En el ensayo final, se probó tanto para *B. linearis* como para *O. picensis* la adición de 6 mmol/planta de MGDA, así como la adición de compost hasta llegar a un 5-7% de materia orgánica (se probaron las estrategias juntas y por separado). Los resultados arrojaron que para *B. linearis* los tratamientos no tuvieron efectos, dependiendo la extracción solo de la concentración de Cu total en la profundidad de 15-30 cm. Para *O. Picensis*, si bien no hubo diferencias significativas entre tratamientos debido a la alta variabilidad, el análisis en detalle permitió clarificar qué tratamiento de quelantes fue el más efectivo (6,6 veces la media del control).

- 6. Determinar si la combinación estrategia(s)-especie seleccionada permitió la reducción del tiempo de remediación del suelo a un período menor a 10 años.

Considerando al tratamiento de quelantes como el más exitoso para *O. picensis*, se calculó nuevamente el número de ciclos necesarios para remediar un

suelo contaminado por Cu, utilizando los valores máximos, mínimos y promedio obtenidos en el tratamiento quelantes del ensayo anterior y proyectándose una sobrevivencia al 100%. Los resultados arrojaron una disminución del número de ciclos necesarios en relación a la condición sin mejoras (promedio de disminución de 15%); sin embargo, el número de ciclos necesarios para remediar un suelo ascendía todavía al orden de décadas a milenios en el escenario de mayor contaminación, lo que la hace inviable en condiciones reales. Para *B. linearis*, dado que los mejoramientos no tuvieron efecto, no se calculó nuevamente el número de ciclos.

7. Elaborar una metodología de fitoextracción de suelos para las características específicas del caso de Puchuncaví y Quintero, evaluando las implicancias técnicas y una aproximación económica de lo que aplicar la metodología a gran escala significa.

El objetivo final de esta investigación era obtener una metodología para la remediación a escala real del territorio contaminado por cobre de las comunas de Puchuncaví y Quintero, en base a la mejora de las capacidades extractivas de especies acumuladoras previamente seleccionadas. Se concluyó que la hipótesis de investigación fue rechazada ya que no se logró disminuir el número de ciclos necesarios para remediar un suelo contaminado por Cu, a un valor <10 ciclos de cultivo (valor establecido como límite aceptable en la metodología), para ninguna de las especies, utilizando los mejoramientos evaluados.

Se recomiendan una serie de evaluaciones o mejoramientos al estudio aquí desarrollado, para mejorar los resultados obtenidos. Entre ellos se sugiere prospectar nuevas especies con alta acumulación de Cu, pero esta vez en vetas de mineral meteorizado. También testear cultivos energéticos que han dado buenos resultados según investigaciones recientes. También se sugiere probar el efecto de las enmiendas y quelantes, para *B. linearis*, en condiciones controladas. Se sugiere evaluar el uso de compost no alcalino para evitar el efecto negativo de la alcalinidad sobre la extracción. También se recomienda probar en condiciones controladas y en terreno mayores dosis de quelantes para *O. picensis*. Por último, se sugiere evaluar otras estrategias de mejoramientos como la adición de micorrizas, que ha tenido efectos positivos según otros autores nacionales. Se recomienda también evaluar el efecto de la implementación de un sistema de riego sobre la extracción bajo las estrategias de mejoramiento seleccionadas, para evitar los efectos negativos de la escasez hídrica.

## 8.2. Conclusiones globales

Considerando el objetivo general de esta investigación, es posible concluir que no fue posible obtener una metodología ambiental, social y económicamente sostenible para la remediación a escala real del territorio contaminado por cobre de las comunas de Puchuncaví y Quintero en base a la mejora de las capacidades extractivas mediante las estrategias evaluadas en esta tesis en *Baccharis linearis*, *Oenothera picensis* y *Argemone subfusiformis*. Esto porque las estrategias de mejoramiento de la extracción evaluadas, no permitieron reducir el número de ciclos necesario para remediar un suelo contaminado por Cu, a un período menor a 10 años, tiempo que se consideraba prudente, en el ámbito de la gestión pública, para hacer a la metodología factible de aplicarse a escala real en los suelos afectados por contaminación metálica. En base al conocimiento generado se sugieren una serie de mejoras metodológicas que podrían permitir mejorar los resultados obtenidos en esta tesis y lograr cumplir el objetivo general inicialmente planteado.



El desarrollo de la tesis, más allá del rechazo de la hipótesis permitió adquirir un conocimiento profundo sobre las variables metodológicas y las variables propias del ecosistema estudiado, que influyen sobre la eficiencia de la fitoextracción y que deben considerarse al momento de aplicarse la técnica a escala real. Claramente y dada la complejidad de los sistemas que componen un paisaje, existen otras variables que esta tesis no ha considerado que también podrían influir sobre un proceso de remediación a gran escala, por ejemplo las limitantes regulatorias asociadas a los instrumentos de Planificación Territorial Actual o las limitantes económicas asociadas a las entidades que se harían cargo de los procesos de remediación (empresas, gobierno o una conjunción de ambos). Todas estas variables también deberían considerarse al momento de llevar a cabo efectivamente un proceso de fitoextracción a gran escala.

Se considera que la tesis, innovadora en el campo de la fitoextracción a nivel nacional, constituye una piedra basal para el desarrollo de futuras investigaciones aplicadas que lleven a generar una metodología de remediación de suelos factible de ser aplicada en el área de estudio y otras áreas contaminadas por actividad minera del país.

**CAPÍTULO XIX**  
**BIBLIOGRAFÍA GENERAL**



- Adriano, D. (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments: biogeochemistry, bioavailability and risk of metals. New York, New York, Springer Verlag. 533 pp.
- Acosta, M. (2007). Determinación de metales pesados en suelos agrícolas del valle de Mezquital, Hidalgo. Licenciado en Biología. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México. 201 pp.
- Acuña, O., Silva, G., Lemus, D., Fuenzalida, M., Román, D., Rivera, L. & Varela, H. (1999). Intoxicación con ion cobre en ratas preñadas y su efecto en la formación de centros primarios de osificación en fetos. *Revista Chilena de Anatomía*, 17(2), 217-224.
- Alloway, B. J. (2013). Introduction. In: Alloway, J. B. (Ed), *Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability* (pp. 3-9). Dordrecht. Springer Netherlands.
- Anderson, T. A. & Coats, J. R. (1994). Bioremediation through rhizosphere technology. Washington D.C, American Chemical Society. 249 pp.
- Ansorena, J. (1996). La contaminación del suelo. *SUSTRAI (España)*: 49-53 pp.
- Aragón, F. & Rud, J. (2012). Mining, Pollution and Agricultural Productivity: evidence from Ghana. Discussion Papers Department of Economics, Simon Fraser University, Burnab, Simon Fraser University: 53 pp.
- Araya, M., McGoldrick, M., Klevay, L., Strain, J., Robson, P., Nielsen, F., Olivares, M., Pizarro, F., Johnson, L. & Kenneth, P. (2001). Determination of an acute no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for copper in water. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 34(2), 137-145
- Araya, M., Olivares, M. & Pizarro, F. (2005). Efectos agudos del cobre en el ser humano. In: Torres, J. C. (Ed), *Cobre, Medio Ambiente y Salus* (pp. 228). Santiago, Chile. Instituto de Innovación en Minería y Metalurgia.
- Aros, E. (2007). Aplicación y alcances de la fitorremediación como una alternativa de saneamiento ambiental. Ingeniero Forestal. Escuela de Ingeniería Forestal, Universidad de Talca. Talca. 112 pp.
- Asami, T. (1988). Soil pollution by metals from mining and smelting activities. In: Salomons, W. & Forstner, U. (Ed), *Chemistry and Biology of Solid Waste: Dredged Material and Mine Tailings* Berlin. Springer-Verlag.
- Ávila, G., Gaete, H., Morales, M. & Neaman, A. (2007). Reproducción de *Eisenia foetida* en suelos agrícolas de áreas mineras contaminadas por cobre y arsénico. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 42(3), 435-441.
- Aznar, J. C., Richer-Lafleche, M. & Cluis, D. (2008). Metal contamination in the lichen *Alectoria sarmentosa* near the copper smelter of Murdochville, Québec. *Environmental Pollution*, 156(1), 76-81.
- Baker, A. & Brooks, R. (1989). Terrestrial higher plants which hyperaccumulate

- metallic elements: A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1(2), 81-108.
- Barceló, J. & Poschenrieder, C. (2003). Phytoremediation: Principles and perspectives. *Contributions to Science*, 2, 333-344.
- Bech, J., Poschenrieder, C., Barceló, J. & Lansac, A. (2002). Plants from Mine Spoils in the South American Area as Potential Sources of Germplasm for Phytoremediation Technologies. *Acta Biotechnologica*, 22(1-2), 5-11.
- Bhargava, A., Carmona, F. F., Bhargava, M. & Srivastava, S. (2012). Approaches for enhanced phytoextraction of heavy metals. *Journal of environmental management*, 105, 103-120.
- BioPlanta GmbH. (2016). Servicios de Ingeniería: Saneamiento de suelos. Bioplanta. Leipzig, Alemania. Disponible: [http://www.bioplanta-leipzig.de/es\\_index.html](http://www.bioplanta-leipzig.de/es_index.html) [2016, 22 de Julio].
- BioSoil. (2008). Techniques. BioSoil. Hendrik Ido Ambacht, South Holland, Netherlands. Disponible: <http://www.biosoil.com/site/en/biosoilbv/technieken.html> [2008, 21 de Julio].
- Bolan, N. S. & Duraisamy, V. P. (2003). Role of inorganic and organic soil amendments on immobilisation and phytoavailability of heavy metals: a review involving specific case studies. *Soil Research*, 41(3), 533-555.
- Bravo, P. (2005). La remediación de pasivos ambientales. *Minería Chilena* (on-line). Santiago, Chile. 287.
- Bruno, C. (1992). El viento y el relieve como factores geográficos determinantes en la dispersión de contaminantes derivados de los procesos productivos del cobre (comuna de Puchuncaví, V región), Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 103 pp.
- Cameron, R. (1992). Guide to site and soil description for hazardous waste site characterization: Volume 1: metals. Washington D.C, USA. U.S Environmental Protection Agency. 288 pp.
- Camus, P. (2004). Los bosques y la minería del norte chico, S. XIX. Un mito en la representación del paisaje chileno. *Historia (Chile)*, 2(37), 289-310.
- Cartagena, P. (2007). Cierre de Faenas Mineras: una aproximación a la situación en Chile. *Curso minería 2007*. Santiago, Chile, Sociedad Nacional de Minería.
- Castilla, J. C. & Nealler, E. (1978). Marine Environmental Impact Due to Mining Activities of El Salvador Copper Mine, Chile. *Marine Pollution Bulletin*, 9, 67-70.
- Castilla, J. C. (1996). Copper mine tailing disposal in northern Chile rocky shores: *Enteromorpha compressa* (Chlorophyta) as a sentinel species. *Environmental Monitoring and Assessment*, 40(2), 171-184.
- Chaney, R., Li, Y.-M., Brown, S., Homer, F., Malik, M., Angle, S., Baker, A., Reeves, R. & Chin, M. (2000). Improving Metal Hyperaccumulator Wild Plants to develop commercial phytoextraction systems: Approaches and progress. In: Terry, N. & Bañuelos, G. (Ed), *Phytoremediation of contaminated soil and water* (pp. 130-132). Boca Ratón, Florida. Lewis Publisher.

COCHILCO (Comisión Chilena del Cobre). (2004). Revisión de la guía sobre calidad del agua potable de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en lo relativo al contenido del cobre. COCHILCO. Disponible: <http://www.cochilco.cl/desarrollo/internacional/revision.asp> [2008, Junio 2008]

COCHILCO (Comisión Chilena del Cobre). (2004b). Principales empresas mineras. COCHILCO. Santiago, Chile. Disponible: <http://www.cochilco.cl/inversion/guia/principales.asp> [2008, Junio 2008].

COCHILCO (Comisión Chilena del Cobre) (2001). Estadísticas del cobre y otros minerales 1991-200. Santiago, Chile. COCHILCO.

COCHILCO (Comisión Chilena del Cobre). (2007). Chile y la Minería. COCHILCO. Santiago, Chile. Disponible: [http://www.cochilco.cl/atencion\\_usuario/chile\\_mineria.asp](http://www.cochilco.cl/atencion_usuario/chile_mineria.asp) [2011, 17 de mayo].

Comisión Chilena del Cobre (COCHILCO). (2008). Anuario de estadísticas del cobre y otros minerales. Santiago. COCHILCO. 156 pp.

Cohen, B. & Hering, S. (1995). Air sampling Instrument for evaluation of Atmospheric Contaminants. American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, Ohio.

CONAMA (Comisión Nacional de Medio Ambiente). (1998). Guía para el control y prevención de la contaminación industrial. Rubro Fundiciones. Santiago, Chile. Comisión Nacional del Medio Ambiente. 72 pp.

CONAMA (Comisión Nacional del Medio Ambiente). (2008). Normativa Ambiental: Normas de Calidad y Emisión. CONAMA. Santiago, Chile. Disponible: <http://www.conama.cl/portal/1301/article-34691.html> [2008, 28 de Diciembre].

Correa, J., Castilla, J. C., Ramírez, M., Varas, M., Lagos, N., Vergara, S., Moenne, A., Román, D. & Brown, M. (1999). Copper, copper mine tailings and their effect on marine algae in Northern Chile. *Journal of Applied Phycology*, 11(1), 57-67.

Correa, J., Ramírez, M., de la Harpe, J.-P., Román, D. & Rivera, L. (2000). Copper, copper mining effluents and grazing as potential determinants of algal abundance and diversity in northern Chile. *Environmental Monitoring and Assessment*, 61, 267-283.

Costa, D. & Dreher, K. (1997). Bioavailable transition metals in particulate matter mediate cardiopulmonary injury in healthy and compromised animal models. *Environmental Health Perspectives*, 105(5), 1053-1060.

Cunningham, S. & Ow, D. (1996). Promises and prospect of phytoremediation. *Plant Physiology*, 110, 715-719.

Daghan, H. (2004). Phytoextraction of heavy metal from contaminated soils using genetically modified plants, Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen 119 pp.

De Gregori, I., Lobos, G., Lobos, S., Pinochet, H., Potin-Gautier, M. & Astruc, M. (2000). Copper and selenium in rainwater, soils and alfalfa from agricultural ecosystems of Valparaíso region, Chile. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 45(1), 131-146.

De Gregori, I., Fuentes, E., Rojas, M., Pinochet, H. & Potin-Gautier, M. (2003). Monitoring of copper, arsenic and antimony levels in agricultural soils impacted and non-impacted by mining activities, from three regions in Chile. *Journal of Environmental Monitoring*, 5, 287-295.

De Vos, C., Schat, H., De Waal, M., Vooijs, R. & Ernst, W. (1991). Increased resistance to copper-induced damage of the root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Physiologia Plantarum*, 82, 523-528.

DOWA ECO-SYSTEM Co. Ltda. (2008). Soil Remediation. DOWA Eco-System Co., Ltda. Chiyoda-ku, Tokyo, Japan. Disponible: <http://www.dowa-eco.co.jp/en/soil.html> [2008, 21 de Julio].

ECOAMERICA (2007). Factor de envejecimiento, nueva información para el cierre de tranques de relaves. *Ecoamérica (Chile)*. 67: 14-15 pp.

EdenSpace Systems Corporation. (2008). Products & Technology: Environmental Solutions. EdenSpace. Manhattan, Kansas, USA. Disponible: <http://www.edenspace.com/products/envirosolutions.html?expandable=1> [2008, 22 de Julio].

Eisler, R. (1998). Copper hazard to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Laurel, Madison. USA, U.S Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report USGS/BRD/BSR/-1998-0002: 120 pp.

Elgerwi, A., Bires, J. & Levkut, M. (1999). Industrial copper intoxication in sheep: clinical and pathological findings. *Acta Veterinaria Brunensis*, 68, 197-202.

ENSR. (2008). Market/Services: Remediation/Site Closure/ Site Remediation. ENSR. Disponible: <http://www.ensr.aecom.com/MarketsAndServices/44/85/index.html> [2008, 21 de Julio].

Envirotech. (2008). Technologies. Envirotech. Woking, Reino Unido. Disponible: <http://www.mbeltd.co.uk/index.htm> [2008, 21 de Julio].

Epstein, E. & Bloom, A. (2005). Mineral nutrition of Plants: Principles and Perspectives. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates, Inc. 400 pp.

Espinace, R. & Villavicencio, G. (2004). Innovación en el control de operación y abandono de tranques de relave. *Expomin 2004*. Valparaíso, Chile.

Fariña, J., Aldana, M., Ogalde, F. & Ojeda, P. (2000). Ecología trófica de *Girella laevifrons* (Pisces: Kyphosidae) en zonas intermareales rocosas del norte de Chile afectadas y no afectadas por contaminantes derivados de la minería del cobre. *Revista Chilena de Historia Natural*, 73(1), 139-149.

Fassbender, H. (1978). *Química de Suelos*. San José, Editorial Ilica. 396 pp.

Folchi, M. (2001). La insustentabilidad de la industria del cobre en Chile: Los hornos y los bosques durante el siglo XIX. *Revista Mapocho*. 49: 149-175 pp.

Folchi, M. (2003). La insustentabilidad del boom minero chileno: política y medio ambiente 1983-2003. *Ecología Política (Barcelona)*: 23-49 pp.

Folchi, M. (2006). Historia ambiental de las labores de beneficio en la minería del

cobre en Chile, siglos XIX y XX. Tesis de doctorado. Departamento de Economía y de Historia Económica, Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona, Spain. 727 pp.

Gaetke, L. M. & Chow, C. K. (2003). Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, 189(1-2), 147-163.

Ginocchio, R., Carvallo, G., Toro, I., Bustamante, E., Silva, Y. & Sepúlveda, N. (2004). Micro-spatial variation of soil metal pollution and plant recruitment near a copper smelter in central Chile. *Environmental Pollution*, 127(3), 343-352.

BioPlanta GmbH. (2016). Servicios de Ingeniería: Saneamiento de suelos. Bioplanta. Leipzig, Alemania. Disponible: [http://www.bioplanta-leipzig.de/es\\_index.html](http://www.bioplanta-leipzig.de/es_index.html) [2016, 22 de Julio].

Galbraith, H., Jeune, K. & Lipton, J. (1995). Metal and arsenic impacts to soils, vegetation communities and wildlife habitat in southwest Montana uplands contaminated by smelter emissions: I. Field evaluation. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 14, 1895-1903.

García-Rubio, L., García-Arroyo, R., Miguez, M. & Soler, F. (2000). Intoxicación por cobre en ovino: eficacia del tratamiento y evaluación del cobre en suero. *Patología Animal*, 15, 377-380.

Ghosh, M. & Singh, S. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Applied Ecology and Environmental Research*, 3(1), 1-18.

Ginocchio, R. (2008). Los Problemas ambientales derivados de la actividad industrial: El caso de la minería metálica. Apuntes Curso Evaluación de Impacto Ambiental. Facultad de Ciencias Biológicas. Departamento de Ecología. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. Disponible: <http://www.bio.puc.cl/cursos/bio229p/mineria.doc> [2008, 3 de mayo del 2008].

Ginocchio, R. (2000). Effects of a copper smelter on a grassland community in the Puchuncaví Valley, Chile. *Chemosphere*, 41(1-2), 15-23.

Ginocchio, R., Rodríguez, P., Badilla-Ohlbaum, R., Allen, H. & Lagos, G. (2002). Effect of soil copper content and pH on copper uptake of selected vegetables grown under controlled conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 1736-1744.

Glick, B. (2010). Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnology Advances*, 28(3), 367-374.

González, S. (1994). Estado de la contaminación de los suelos en Chile. In: G. Espinoza, Pisani, P., Contreras, L. & Camus, P. (Ed), *Perfil Ambiental de Chile* (pp. 395-415). Santiago, Chile. Comisión Nacional del Medio Ambiente.

González, S. & Berqvist, A. (1986). El impacto de emisiones de gases y otros productos desde chimeneas de fundiciones de minerales sobre las actividades agropecuarias. *Ambiente y Desarrollo (Chile)*, 2(3), 117-122.

González, I., Muena, V., Cisternas, M. & Neaman, A. (2008). Acumulación de cobre en una comunidad vegetal afectada por contaminación minera en el valle de Puchuncaví, Chile central. *Revista Chilena de Historia Natural*, 81(2), 279-291.



González, S. (2008). Impactos ambientales y en la salud humana de la minería a cielo abierto para la extracción de oro utilizando lixiviación con soluciones de cianuro. Chile. Disponible: <http://www.noapascualama.org/datos/ftp/ImpactosAmbientalesCianuro.doc> [2008, 5 de mayo del 2008].

González, I., Neaman, A., Rubio, P. & Cortés, A. (2014). Spatial distribution of copper and pH in soils affected by intensive industrial activities in Puchuncaví and Quintero, central Chile. *Journal of soil science and plant nutrition*, 14, 943-953.

González, I., Cortés, A., Neaman, A. & Rubio, P. (2011). Biodegradable chelate enhances the phytoextraction of copper by *Oenothera picensis* grown in copper-contaminated acid soils. *Chemosphere*, 84, 490-496.

González, I. & Neaman, A. (2015). Evaluación de la tolerancia al cobre de dos poblaciones de *Oenothera picensis* Phil. subsp. *picensis* (Onagraceae). *Gayana Botánica*, 72, 240-249.

Gupta, D., Singh, L., Gupta, A. & Babu, V. (2012). *Phytoremediation: An efficient approach for Bioremediation of organica and metallic ions pollutans, in bioremediation and sustainability. Research and Applications.* Hoboken, N.J, John Wiley & Sons Inc.

Hänsch, R. & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 259-266.

Hazrat, A., Khan, E. & Anwar, M. (2013). Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications. *Journal of Hazardous Materials*, 185, 549-574.

Headley, S., Faria, A., Duim, T., Nakagawa, R. & Rodrigues, F. (2008). Chronic copper poisoning in sheep from Northern Paraná, Brazil: case report. *Semina; Ciências Agrárias, Londrina*, 29, 179-184.

Hee Park, J., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N. & Chung, J.-W. (2011). Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal(loid) contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 185, 549-574.

Hernández, A. & Pastor, J. (2008). Relationship between plant biodiversity and heavy metal bioavailability in grasslands overlying an abandoned mine. *Environmental Geochemistry and Health*, 30(2), 127-133.

Hewitt, E. (1983). Chapter 14 - A Perspective of Mineral Nutrition: Essential and Functional Metals in Plants A2 - ROBB, D.A. In: Pierpoint, W. S. (Ed), *Metals and Micronutrients* (pp. 277-323). London. Academic Press.

Higuera, P., Oyarzún, R., Oyarzún, J., Maturana, H., Lillo, J. & Morata, D. (2004). Environmental assessment of copper-old-mercury mining in the Andacollo and Punitaqui district, northern Chile. *Applied Geochemistry*, 19(11), 1855-1864.

Hocking, P. J. & Pate, J. S. (1978). Accumulation and distribution of mineral elements on the annual lupins *Lupinus albus* L. and *Lupinus angustifolius* L. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29, 267-280.

Horizontal Subsurface Systems Inc. (HSSI). (2008). *Environmental Remediation.* HSSI. Cape Coral, Florida, USA. Disponible: [http://www.horizontal.com/Applications/Environmental\\_Remediation/envir\\_rem\\_desc](http://www.horizontal.com/Applications/Environmental_Remediation/envir_rem_desc)

.html [2008, 21 de Julio].

Interstate Technology & Regulatory Council. (2011). Incorporating Bioavailability Considerations into the Evaluation of Contaminated Sediment Sites. ITRC. Washington D.C, USA. Disponible: [http://www.itrcweb.org/contseds-bioavailability/consed\\_1.htm](http://www.itrcweb.org/contseds-bioavailability/consed_1.htm) [2016, 27 de julio].

Instituto Nacional de Normalización (1978). Estándares para agua de Regadío. Norma Chilena Oficial N° 1333. Aprobada por Decreto Supremo N° 867 del 07/04/1978 del Ministerio de Obras Públicas.

Instituto Nacional de Normalización (1984). Norma Chilena Oficial. Agua potable. Parte I: Requisitos. Norma Chilena Oficial N° 409/1 Of N° 84. Aprobada por el Ministerio de Salud mediante Decreto Supremo N° 11 del 16/01/1984.

ITRC (Interstate Technology & Regulatory Council). (2011). Incorporating Bioavailability Considerations into the Evaluation of Contaminated Sediment Sites. ITRC. Washington D.C, USA. Disponible: [http://www.itrcweb.org/contseds-bioavailability/consed\\_1.htm](http://www.itrcweb.org/contseds-bioavailability/consed_1.htm) [2016, 27 de julio].

Jensen, J. & Mesman, M., Eds. (2006). Ecological risk assessment of contaminated land. The Netherlands, National Institute for Public Health and the Environment. 136 pp.

Kabata-Pendias, A. (1995). Agricultural problems related to extensive trace metal contents of soils. In: Salomons, W., Förstner, U. & Mader, P. (Ed), Heavy metals, problems and solutions (pp. 3-18). Berlin, Germany. Springer-Verlag.

Kabata-Pendias, A. & Pendias, H. (2000). Trace elements in soils and plants. An Arbor, Michigan, CRC Press. 432 pp.

Koopmans, G. F., Römkens, A. M., Song, J., Temminghoff, E. J. & Japenga, J. (2007). Predicting the Phytoextraction Duration to Remediate Heavy Metal Contaminated Soils. *Water, Air and Soil Pollution*, 181, 355-371.

Kuperman, R. & Carreiro, M. (1997). Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. *Soil biology and Biochemistry*, 29(2), 179-190.

Lagos, G. (2004). 20 años de cambio ambiental minero en la revista Ambiente y Desarrollo de CIPMA. *Revista Ambiente y Desarrollo*. 20: 57-67 pp.

Lasat, M. (2000). The Use of Plants for the Removal of Toxic Metals from Contaminated Soil. Washington D.C, USA. Environmental Protection Agency. 33 pp.

Lee, M. & Correa, J. (2005). Effects of copper mine tailings disposal on littoral meiofaunal assemblages in the Atacama region of northern Chile. *Marine Environmental Research*, 59, 1-18.

León-Lobos, P., Ginocchio, R. & Baker, A. (2011). Fitoestabilización de Depósitos de Relaves en Chile. Santiago, Centro de Investigación Minera y Metalúrgica, CIMM; Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIA; INNOVA CORFO: 62 pp.

Li, Y.-M. & Trush, M. (1993). DNA damage resulting from the oxidation of hydroquinone by copper: role for a Cu (II)/Cu(I) redox cycle and reactive oxygen

generation. *Carcinogenes*, 7, 1303-1311.

López, P., Ainzúa, S., Zolezzi, C. & Vasconi, P. (2003). La minería y su pasivo ambiental. Terram Publicaciones. Serie APP: 1-15 pp.

López, M. (2011). Evaluación de la contaminación por elementos traza en suelos afectados por actividades mineras en Riotinto (España). Tesis para optar al grado de Doctor. Facultad de Química, Universidad de Sevilla. España. 208 pp.

Loué, A. (1988). Los microelementos en la agricultura. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa.

Maita, A. (2008). Evaluación de la adsorción de Cd (II) y Cu (II), mediante la utilización de la biomasa obtenida de la sábila (*Aloe vera*). Tesis para obtener el grado de Licenciada a Química. Departamento de Química, Universidad de Oriente. Cumaná, Venezuela. 108 pp.

McBride, M. (2001). Cupric Ion Activity in Peat Soil as a Toxicity Indicator for Maize. *Journal of Environmental Quality*, 30, 78-84.

McMullen, W. (1971). Copper contamination of soft drinks from bottle pourers. *Health Bulletin*, 29(2), 94-96. McMullen, W. (1971). Copper contamination of soft drinks from bottle pourers. *Health Bulletin*, 29(2), 94-96.

MINSEGPRES (Ministerio Secretaría General de la Presidencia) (1998). Decreto 59. Establece Norma de Calidad Primaria para Material Particulado Respirable MP10, en especial de los Valores que Definen Situaciones de Emergencia. 59 pp. Santiago, Chile.

Ministerio de Medio Ambiente. División de Políticas y Regulaciones (2011). Programa para el control de las emisiones al aire del sector industrial 2010-2014. Santiago, Chile, Ministerio de Medio Ambiente: 14 pp.

Ministerio de Medio Ambiente. (2013). Políticas para la prevención y remediación de pasivos ambientales mineros en Chile. Disponible: [http://www.mma.gob.cl/1304/articles-50734\\_d1cSERNAGEOMINpoliticasPAM.pdf](http://www.mma.gob.cl/1304/articles-50734_d1cSERNAGEOMINpoliticasPAM.pdf)

Ministerio de Minería (1992). Reglamenta funcionamiento de establecimientos emisores de anhídrido sulfuroso, material particulado y arsénico en todo el territorio de la república, Diario Oficial. D.S N° 185: 22 pp.

Ministerio de Minería. (2011). Regula el Cierre de Faenas e Instalaciones Mineras. 20551. Ministerio de Minería. Santiago, Chile, Ley N° 20.551.

Ministerio de Minería. (2002). Reglamento de Seguridad Minera. Decreto N°132 del Ministerio de Minería. 213 pp.

Ministerio de Minería. (2006). Reglamento para la aprobación de proyectos de diseño, construcción operación y cierre de los depósitos de relaves. 86. D.S N° 248. 5 pp.

Ministry of Infraestructure and the Environment. (2013). State of the art of contaminated site management. Rijswijk, The Netherland. Rijkswaterstaat Environment. 44 pp.

- MINSAL (Ministerio de Salud), Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA) & Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). (2007). Plan de descontaminación de Ventanas 1993-2006. Santiago, Chile. 46 pp.
- MINSEGPRES (Ministerio Secretaría General de la Presidencia) (2003). Decreto 113. Establece Norma Primaria de calidad para dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>). Chile, Biblioteca del Congreso Nacional: 6 pp.
- Misra, K. (2000). Understanding Mineral Deposits. Knoxville, USA, Kluwer Academic Publishers. 840 pp.
- Mortvedt, J. J., Giordano, P. M. & Lindsay, W. L. (1991). Micronutrientes en agricultura. Ciudad de México, México, AGT Editores.
- Movimiento Mundial por los Bosques Tropicales (2004). Minería. Impactos sociales y ambientales. Montevideo, Uruguay, Rosgal S.A. 180 pp.
- Muena, V. (2006). Selección de especies adecuadas para la fitorremediación de suelos contaminados por cobre en el sector de Los Maitenes, comuna de Puchuncaví, en experimentos bajo condiciones controladas. Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Quillota, Chile. pp.
- Muena, V., González, I. & Neaman, A. (2010). Efectos del encalado y la fertilización nitrogenada sobre el desarrollo de *Oenothera affinis* en un suelo afectado por la minería del cobre. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(2), 102-114.
- Müller-Höcker, J., Meyer, U., Wiebecke, B., Hübner, G., Eife, R., Kellner, M. & Schramel, P. (1988). Copper storage disease of the liver and chronic dietary copper intoxication in two further German infants mimicking Indian childhood cirrhosis. *Pathology, research and practice*, 183(1), 39-45.
- Muñoz, A. (2007). Gestión Ambiental en Chile y su aplicación en la minería. Presentaciones para el XV Simposium de ingeniería en Minas-SIMIN 2007 "Minería de Excelencia hacia el Bicentenario". Santiago, Chile.
- Nagar, J., Akilkar, A. & Kumar, R. (2014). A review on airborne particulate matter and its sources, chemical composition and impact on human respiratory system *International Journal of Environmental Sciences*, 5(2), 477-463.
- Nabors, M. (2006). Introducción a la botánica. Madrid, Pearson Educación S.A. 744 pp.
- Narasimha, M. & Prasad, M. N. V. (2004). Heavy Metal Stress in Plants: from biomolecules to ecosystem. Heidelberg, Alemania, Springer-Verlag. 1957 pp.
- Navarro, A., Cardellach, E., Mendoza, J. L., Corbella, M. & Domènech, L. M. (2008). Metal mobilization from base-metal smelting slag dumps in Sierra Almagrera (Almería, Spain). *Applied Geochemistry*, 23(4), 895-913.
- Neaman, A., Huerta, S. & Sauve, S. (2012). Effects of lime and compost on earthworm (*Eisenia fetida*) reproduction in copper and arsenic contaminated soils from the Puchuncavi Valley, Chile. *Ecotoxicol Environ Saf*, 80, 386-392.
- Neaman, A., Reyes, L., Trolard, F., Bourrié, G. & Sauvé, S. (2009). Copper mobility in contaminated soils of the Puchuncaví valley, central Chile. *Geoderma*, 150(3-4),

359-366.

Nicholas, P. (1968). Food poisoning due to copper in the morning tea. *Lancet*, 2(7558), 40-42.

Nieminen, T. (2004). Effects of soil copper and nickel on survival and growth of Scots pine. *Journal Environmental Monitoring*, 6, 888-896.

Nwachukwu, O. I. & Pulford, I. D. (2009). Soil metal immobilization and ryegrass uptake of lead, copper and zinc as affected by application of organic materials as soil amendments in a short-term greenhouse trial. *Soil Use and Management*, 25(2), 159-167.

Olivares, M., Araya, M., Pizarro, F. & Uauy, R. (2001). Nausea threshold in apparently healthy individuals who drinks fluids containing graded concentrations of copper. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 33, 271-275.

Ortega-Calvo, J.-J., Harmsen, J., Parsons, J. R., Semple, K. T., Aitken, M. D., Ajao, C., Eadsforth, C., Galay-Burgos, M., Naidu, R., Oliver, R., Peijnenburg, W. J. G. M., Römbke, J., Streck, G. & Versonnen, B. (2015). From Bioavailability Science to Regulation of Organic Chemicals. *Environmental Science & Technology*, 49(17), 10255-10264.

Panou- Filotheou, H., Bosabalidis, M. & Kartaglis, S. (2001). Effects of copper toxicity on leaves of Oregani (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*). *Annals of Botany*, 88, 207-214.

Peng, C., Almeida, J. & Gu, Q. (2013). Effect of electrode configuration on pH distribution and heavy metal ions migration during soil electrokinetic remediation. *Environmental Earth Sciences*, 69(1), 257-265.

Percival, T. (1784). A history of the fatal effects of pickles impregnated with copper, together observations on that mineral poison. *Medical Transactions of the Royal College of London*, 30, 80-95.

Peter-Singh, L., Gill, S. S., Gill, R. & Tuteja, N. (2012). Mechanism of Sulfur Dioxide Toxicity and Tolerance in Crop Plants. In: (Ed), *Improving Crop Resistance to Abiotic Stress* (pp. 133-163). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

PGS Chile. (2015). Muestreo de suelos para las comunas de Quintero y Puchuncaví, región de Valparaíso. Santiago, Chile. Ministerio de Medio Ambiente. 128 pp.

PhytoTech. (2008). PhytoTech. PhytoTech. Cincinnati, Ohio, USA. Disponible: <http://www.clu-in.org/products/site/ongoing/demoong/phytotec.htm> [2008, 23 de Julio].

Pizarro, F., Olivares, M., Uauy, R., Contreras, P., Rebelo, A. & Gidi, V. (1999). Acute Gastrointestinal Effects of Graded Levels of Copper in Drinking Water. *Environmental Health Perspective*, 107(2), 117-121.

PLANTECO Environmental Consultants, L. (2008). Services. PLANTECO. Athens, Georgia, USA. Disponible: <http://www.planteco.com/clients.htm> [2008, 22 de Julio].

Portilla, P. (2007). Minera Pelambres sufre nuevo derrame de aguas contaminadas a un río. *La Tercera on-line*. Santiago, Chile.

Posthuma, L., Notenboom, J., de Groot, A. & Peijnenburg, W. (1998). Soil acidity as a major determinant of zinc partitioning and zinc uptake in two oligochaete worms (*Eisenia andrei* and *Enchytraeus crypticus*) exposed in contaminated field soils. In: Shepard, S., Bembridge, J., Holmstrup, M. & Posthuma, L. (Ed), *Advances in Earthworm Ecotoxicology* (pp. 111-127). Pensacola. SETAC.

Rachou, J., Gagnon, C. & Sauvé, S. (2007). Use of an ion selective electrode for free copper measurements in low salinity and low ionic strength matrices. *Environmental Chemistry*, 4(2), 90-97.

Remedial Construction Services (RECON). (2008). *Services: Remediation*. RECON. Houston, Texas, USA. Disponible: <http://www.recon-net.com/remediation-construction-services.html> [2008, 22 de Julio].

Roberts, H. (1981). *Sanidad Alimentaria*. Zaragoza, España, Editorial Acribia. 274 pp.

Roberts, D., Alistairs, G., Poore, B. & Johnson, E. (2006). Ecological consequences of copper contamination in macroalgae effects on epifauna and associated herbivores. *Environmental Toxicology & Chemistry*, 25(9), 2470-2479.

Rodríguez, J. (2008). *Bioquímica. Material de clases 1° año de Medicina*. Cantabria, España, Universidad de Cantabria.

Rubilar, C. (2008). Sonami propone utilizar royalty para remediar pasivos ambientales. *ECOAMERICA* (on-line). Santiago, Chile.

Sánchez, J., Romieu, I., Ruiz, S., Pino, P. & Gutiérrez, M. (1999). Efectos agudos de las partículas respirables y del dióxido de azufre sobre la salud respiratoria en niños del área industrial de Puchuncaví, Chile. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 6(6), 384-391.

Shuman, L. (1991). Chemical forms of micronutrients in soils. In: Mortvedt, J. (Ed), *Micronutrients in agriculture* (pp. 113-144). Madison, USA. Soil Science Society of America.

SERNAGEOMIN (Servicio Nacional de Geología y Minería). (2007). *Anuario de la Minería de Chile*. Santiago. SERNAGEOMIN. 216 pp.

SERNAGEOMIN (Servicio Nacional de Geología y Minería). (2008). Se firmó acuerdo de colaboración respecto de PAM con Codelco Salvador. SERNAGEOMIN. Santiago. Disponible: [http://www.sernageomin.cl/index.php?plantilla=detalle&option=com\\_content&task=view&id=335&Itemid=4&sectionid=4](http://www.sernageomin.cl/index.php?plantilla=detalle&option=com_content&task=view&id=335&Itemid=4&sectionid=4) [2008, 29 de Julio].

Servicio Nacional de Geología y Minería (SERNAGEOMIN) & Instituto Federal de Geociencias y Recursos Naturales (BGR). (2008). *PAMs en Chile*. SERNAGEOMIN, BGR. Providencia, Santiago. Disponible: [http://www.pam.cl/index.php?content=http://www.pam.cl/PAM\\_en\\_Chile.html](http://www.pam.cl/index.php?content=http://www.pam.cl/PAM_en_Chile.html) [2008, 26 de Julio].

SONAMI (Sociedad Nacional de Minería). (2013). *PIB minería*. Santiago, Chile. Disponible: [http://www.sonami.cl/index.php?option=com\\_content&view=article&id=221&Itemid=109](http://www.sonami.cl/index.php?option=com_content&view=article&id=221&Itemid=109) [2014, 23 de marzo].

SONAMI (Sociedad Nacional de Minería). (2015). PIB minería. Santiago, Chile. 27 de agosto 2015. Disponible: [http://www.sonami.cl/index.php?option=com\\_content&view=article&id=221&Itemid=109](http://www.sonami.cl/index.php?option=com_content&view=article&id=221&Itemid=109) [2015, 27 de agosto].

Spurgeon, D. & Hopkin, S. (1999). Seasonal variation in the abundance, biomass and biodiversity of earthworms in soils contaminated with metal emissions from a primary smelting works. *Journal of Applied Ecology*, 36(1), 173-183.

Stevenson, F. (1986). *Cycles of soil-Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*. New York, USA, John Wiley & Sons. 380 pp.

Subsecretaría de Minería (2002). Chile, minería presente y futura. Documentos de extensión. Ministerio de Minería Chileno. Santiago.

Tapia, Y., Díaz, O., Pizarro, C., Segura, R., Vines, M., Zúñiga, G. & Moreno-Jiménez, E. (2013). *Atriplex atacamensis* and *Atriplex halimus* resist As contamination in Pre-Andean soils (northern Chile). *Science of The Total Environment*, 450-451, 188-196.

Taylor, M. P., Mackay, A. K., Hudson-Edwards, K. A. & Holz, E. (2010). Soil Cd, Cu, Pb and Zn contaminants around Mount Isa city, Queensland, Australia: Potential sources and risks to human health. *Applied Geochemistry*, 25(6), 841-855.

The Reynold Group. (2009). *Service: soil remediation*. Tustin, California, USA Disponible: [http://www.reynolds-group.com/Services/Soil\\_Groundwater.asp](http://www.reynolds-group.com/Services/Soil_Groundwater.asp) [2009, 8 de marzo].

Torres, J., Ed. (2005). *Cobre, Medio Ambiente y Salud: Aportes de la Ciencia*. Santiago, Chile, Comisión Chilena del Cobre (COCHILCO).

Ulriksen, C., Ginocchio, R., Mench, M. & Neaman, A. (2012). Lime and compost promote plant re-colonization of metal polluted, acidic soils. *International Journal of Phytoremediation*, 14, 820-833.

Uriu-Adams, J. & Keen, C. (2005). Copper, oxidative stress, and human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5), 268-298.

Usman, A., Soo Lee, S., Awadm, Y., Jae Lim, K., Yang, J. & Sik, Y. (2012). Soil pollution assessment and identification of hyperaccumulating plants in chromated copper arsenate (CCA) contaminated sites, Korea. *Chemosphere*, 87, 872-878.

Valencia, C. (2007). Anteproyecto de Ley de Pasivos Ambientales Mineros y Cierre de Faenas Mineras. Seminario Innovación Tecnológica y Sustentabilidad Ambiental en la Industria Minera. Santiago, Seminario Innovación Tecnológica y Sustentabilidad Ambiental en la Industria Minera. SERNAGEOMIN-CIMM: 216 pp.

Van Campen, D. (1991). Trace elements in human nutrition. In: Mortvedt, J. J., Cox, R. M., Shuman, L. M. & Welch, R. M. (Ed), *Micronutrients in agriculture* (pp. 663-701). Madison, Wisconsin, USA. Soil Science Society of América.

Van Nevel, L., Mertens, J., Oorts, K. & Verheyen, K. (2007). Phytoextraction of metals from soils: How far from practice? *Environmental Pollution*, 150(1), 34-40.

Vara, M. & De Oliveira, H. (2003). Metal hyperaccumulation in plants: Biodiversity

prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology*, 6(3), 285-310.

Vásquez, J., Matsuhira, B., Vega, M., Pardo, L. & Veliz, D. (2000). The effects of mining pollution on subtidal habitats of northern Chile. *International Journal of Environment and Pollution*, 13(1-6), 2-25.

Vassilev, A., Schwitzguébel, J.-P., Thewys, T., Van der Lelie, D. & Vangronsveld, J. (2004). The use of Plant for Remediation of Metal-Contaminated soils. *The Scientific World Journal*, 4, 9-34.

Vial, G. (1987). Panorama histórico del sector minero en Chile. *Ambiente y Desarrollo*. Número especial: 21-27 pp.

VROM (Ministerie van Volkshuisvesting Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer) (2001). The New Dutch List. Intervention values and target values: soil quality standards. The Hague, Netherlands, Netherlands Ministry of Housing, Spatial Planning and Environment, Department of Soil Protection: 51 pp.

Wang, Y.-P., Shi, J.-Y., Lin, Q., Chen, X.-C. & Chen, Y.-X. (2007). Heavy metal availability and impact on activity of soil microorganisms along a Cu/Zn contamination gradient. *Journal of Environmental Sciences*, 19(7), 848-853.

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

Yañez, C. (2005). Las Minas que nadie quiere. *La Nación on-line*. Santiago, Chile.

Yruela, I. (2005). Toxic metal in plants: Copper. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(1), 15-22.

Yupari, A. (2003). Pasivos Ambientales Mineros en Sudamérica. Santiago. Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). 23 pp.

Wu, L., Li, H., Luo, Y. & Christie, P. (2004). Nutrients can enhance phytoremediation of copper-polluted soil by Indian mustard. *Environmental Geochemistry and Health*, 26, 331-335.





**ANEXO I**  
**COBRE COMO NUTRIENTE Y COMO CONTAMINANTE EN**  
**LOS SUELOS**



En este capítulo se realiza una caracterización del cobre en su función como nutriente en el suelo y en las plantas y su comportamiento como contaminante, cuando excede los límites normales. Se ahonda en la temática de la contaminación de suelos por cobre, su origen y como esta contaminación afecta a los distintos elementos del ecosistema, incluido el hombre.

## 1. Cobre en el suelo

El Cu está incluido dentro del grupo de microelementos o elementos traza del suelo, debido a que se encuentran en cantidades mucho menores que otros elementos como N, P y K, tanto en el suelo como en tejidos vegetales, aunque tienen un rol indispensable, en la nutrición vegetal. Este grupo de microelementos se compone por el hierro (Fe), el manganeso (Mn), el zinc (Zn), el cobre (Cu), el boro (B) y el molibdeno (Mo) (Loué, 1988). Hay que diferenciar entre dos grupos de micronutrientes, los aniones, B y Mo, y los cationes, Fe, Cu, Zn y Mn (Fassbender, 1987).

### 1.1. Formas de cobre en el suelo

En los compuestos naturales, el cobre presenta dos valencias. En el suelo, la forma más frecuente es el ion divalente  $\text{Cu}^{+2}$  o uno de sus numerosos compuestos estables. El ion cuproso monovalente  $\text{Cu}^{+}$  es inestable a temperatura ordinaria en concentraciones superiores a  $10^{-7}$  M (Loué, 1988).

El cobre, así como otros microelementos en el suelo se encuentra bajo diferentes estados más o menos definidos (Loué, 1988):

1. La forma soluble en agua (en solución del suelo), ya sea libre ( $\text{Cu}^{+2}$ ) o complejada con sustancias húmicas del suelo. Comúnmente, ésta fracción se obtiene con agua o sales de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Ca}^{+2}$
2. La forma cambiante (iones atraídos por cargas eléctricas de las partículas de los minerales de arcilla) extraída mediante KCl o  $\text{CaCl}_2$
3. La forma absorbida, quelatada<sup>57</sup> o ligada (con materia orgánica, arcillas u óxidos de hierro y manganeso) extraída mediante EDTA o DTPA
4. Como parte de minerales secundarios, arcillosos y los óxidos metálicos insolubles (precipitados)
5. Como parte de minerales primarios

La suma de estas fracciones constituye el cobre total en el suelo. Las formas 1 y 2 (formas lábiles) constituyen la fracción realmente asimilable por las plantas (u otros organismos), la que representa una pequeña parte del cobre total. Ésta fracción suele llamarse "biodisponible" (Shuman, 1991). Mientras el Cu total en un suelo arable normal puede alcanzar 50 ppm, el Cu soluble solo se encuentra normalmente en un rango entre 0,1 a 10 ppm, dependiendo del extractante utilizado (Loué, 1988). De las formas lábiles, la más disponible es el cobre libre divalente,  $\text{Cu}^{+2}$ . Este ion suele ser más tóxico en ambientes neutros que en ambientes ácidos (McBride, 2001). La actividad de este ion, suele medirse como  $\text{pCu}^{+2}$ , lo que representa el  $\log_{10}$  negativo de la actividad molar del ion ( $\text{pCu}^{+2} = -\log_{10}\text{Cu}^{+2}$ ) (Rachou, et al., 2007).

---

<sup>57</sup> Los quelatos son complejos organo-metálicos muy estables donde el metal está insertado en una molécula quelante recubierta, como una pinza

Las fracciones ligadas o complejadas con materia orgánica, óxidos o arcillas (formas semi-lábiles), tienen asimilabilidad variable. La capacidad de adsorción de cobre de los diferentes minerales arcillosos crece en el orden normal, de la caolinita a la illita y la montmorillonita/esmectita. Sin embargo, para este microelemento, los complejos con materia orgánica son más estables que cualquier otro microelemento, particularmente los complejos con ácidos húmicos y fúlvicos, debido a su riqueza en grupos funcionales con oxígeno (Loué, 1988).

Debido a su fuerte tendencia a complejarse, el Cu es uno de los metales traza menos móvil en el perfil del suelo (Adriano, 2001). Su retención en el suelo depende de la cantidad de carbonatos en el suelo, y en menor proporción del pH, el contenido de arcilla y la materia orgánica. En suelos limosos o arcillosos no existe prácticamente lixiviación del cobre, y en suelos arenosos solo se mueve un par de centímetros en el perfil. Sin embargo, es posible que ocurra una significativa lixiviación en el perfil de suelos escasos de humus, en turbas ácidas, o en suelos ácidos minerales (ya que no hay material al cual complejarse) (Mortvedt et al., 1991).

Finalmente, la fracción que ha penetrado en las estructuras de los minerales arcillosos y sobre todo, en aquellos constituyentes de los minerales del suelo, se liberan muy lentamente durante el curso de su meteorización, siendo la fracción de menos asimilabilidad para las plantas (Loué, 1988).

La distribución y niveles de cobres totales y extractables en el perfil de suelo varían dependiendo del tipo de suelo y el material parental del cual derivan (Adriano, 2001).

## 1.2. Contenido de cobre en el suelo

Como ya se mencionó, el cobre es un elemento común en el suelo. Su contenido total en el suelo depende de la composición del material originario y de su grado de descomposición, que depende a su vez del clima presente durante su formación. Para el cobre, se ha reportado un valor promedio de 30 ppm (rango entre 2 a 250) en los suelos del mundo. Para un suelo rural normal, el valor promedio para cobre total se encuentra en un rango entre 1 y 50 ppm, según Adriano (2001) y entre 2 y 100 ppm según Cameron (1992) y entre 3 y 119 según Misra (2000).

## 1.3. Biodisponibilidad del Cu y factores que influyen en ella

Las cantidades totales presentes en un suelo constituyen una medida poco representativa de la posible toxicidad de un metal. La fracción biodisponible, en cambio, si entrega información de lo que podría causar un daño en los organismos. Esta fracción se define como la porción de químicos en el ambiente que está disponible para ser absorbida por los organismos (Adriano, 2001). Como se mencionó anteriormente, las fracciones soluble e intercambiable constituirían la fracción asimilable de Cu por las plantas, sin embargo, este hecho no es categórico. La fracción de un metal que es asimilable por organismos vivos es un valor complejo, que depende de muchos factores, no solo de la fracción de cobre soluble o intercambiable que se encuentre en un instante determinado en un suelo (formas bioaccesibles) (Posthuma et al., 1998). La cantidad de Cu potencialmente asimilable por las plantas es afectada por parámetros físico-químicos del suelo, como:

- a) pH. Es un factor esencial. La adsorción de los metales pesados está fuertemente condicionada por el pH del suelo. La mayoría de los metales

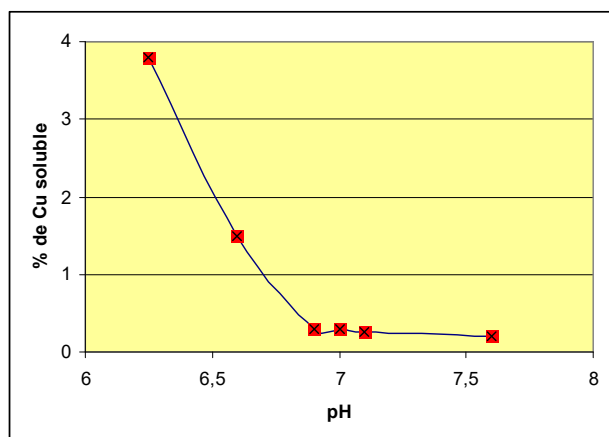
tienden a estar más disponibles a pH ácido, excepto As, Mo, Se y Cr, los cuales tienden a ser más móviles a pH alcalino

- b) Textura. La arcilla tiende a adsorber a los metales pesados, que pueden quedar retenidos en la superficie o en posiciones de cambio. Por el contrario los suelos arenosos carecen de capacidad de fijación de los metales pesados, los cuales pasan rápidamente al subsuelo y pueden contaminar los niveles freáticos.
- c) Mineralogía de las arcillas. Cada especie mineral tiene unos determinados valores de superficie específica y descompensación eléctrica. Ambas características son las responsables del poder sorcitivo de estos minerales. La capacidad de cambio de cationes es mínima para los minerales del grupo de la caolinita, baja para las micas, alta para las esmectitas y máxima para las vermiculitas.
- d) Materia Orgánica. Reacciona con los metales formando complejos de cambio y quelatos. Los metales una vez que forman complejos pueden migrar con mayor facilidad a lo largo del perfil. La materia orgánica puede adsorber tan fuertemente a algunos metales, como el Cu, que pueden quedar en posición no disponible para las plantas. Por eso algunas plantas en los suelos ricos en materia orgánica presentan carencia de ciertos elementos (como el Cu). El Pb y el Zn forman quelatos solubles muy estables.
- e) Capacidad de cambio. Es función del contenido de arcilla y, sobre todo, de la materia orgánica. En general cuanto mayor sea la capacidad de intercambio catiónico, mayor será la capacidad del suelo para fijar metales. El poder sorcitivo para los distintos metales pesados depende de su valencia y del radio iónico hidratado; a mayor tamaño y menor valencia, menos fuertemente quedan retenidos.  
(Shuman, 1991)

Por otro lado, la asimilabilidad del cobre por parte de especies vegetales también depende de las características fisiológicas de la planta que lo absorbe, como se verá en detalle más adelante (Loué, 1988).

### 1.3.1. pH

El pH puede influir de una manera importante en la disponibilidad del Cu y, como consecuencia, en la absorción de éste en las plantas. Sin embargo, la relación del Cu con el pH es débil en comparación con la relación de otros microelementos con este parámetro (Loué, 1988). Específicamente, el aumento de pH reduce la fracción soluble (extraíble con H<sub>2</sub>O) e intercambiable (extraíble con KCl) y por lo tanto la absorción del Cu por parte de las plantas (A I.- Figura 1). Al contrario, la disminución del pH provoca el aumento del cobre en solución, esto, debido a que el ion H<sup>+</sup> provoca el cambio de Cu<sup>+2</sup> a CuOH<sup>+</sup>. Otros estudios indican que no hay relación entre el cobre extractable mediante EDTA y el pH (Neaman et al., 2012; Ulriksen et al., 2012).



**A I.- Figura 1.- Influencia del pH en el porcentaje de cobre soluble en un suelo**

Se observa que a mayor pH la solubilidad del cobre disminuye drásticamente, para estabilizarse a pH mayores a 7

Fuente: Adriano, 2001

### 1.3.2. Materia orgánica

La materia orgánica contiene una fuerte proporción de microelementos asimilables, por lo que suelen ser un aporte importante de cobre a los suelos quien lo dice. Sin embargo, en el caso del cobre, la materia orgánica disminuye, en general, su biodisponibilidad, dado, como se mencionó anteriormente, a que los complejos órgano-metálicos son muy estables, lo que hace difícil su movilidad. Esto se ha probado con enmiendas como compost, estiércol, corteza de madera, lodos municipales, etc. (Ulriksen et al., 2012; Nwachukwu & Pulford, 2009).

### 1.3.3. Textura

Aunque esta relación no ha sido profundamente estudiada, algunos estudios indican una disminución significativa del Cu retenido en el suelo en función de un contenido creciente de elementos gruesos (arenas), debido a que hay menor retención del elemento (Neaman et al., 2009). Lo mismo sucede en aquellos suelos provenientes de rocas ígneas ácidas. Al contrario, los suelos arcillosos suelen contener mayores niveles de cobre. Esto se debe a la alta capacidad de las arcillas para adsorber al Cu. Entre los minerales arcillosos, la capacidad de sorción de cobre se relaciona a la capacidad de intercambio catiónico (montmorillonita>illita>caolinita) (Adriano, 2001).

### 1.3.4. Actividad microbiana

La actividad microbiana, principalmente de las bacterias y hongos es dependiente de numerosos factores del suelo (pH, materia orgánica, etc.) y a la vez influye sobre la asimilabilidad del Cu. Los cinco puntos de influencia de la actividad microbiana sobre la disponibilidad de cobre son:

- Liberación de iones durante descomposición de la materia orgánica
- Inmovilización de cobre por incorporación a tejidos microbianos
- Oxidación de cobre a una forma menos asimilable
- Reducción de la forma oxidada de cobre, en un medio reductor
- Transformaciones indirectas debido a los efectos de los microorganismos sobre el pH (Glick, 2010).

Estos efectos, magnificados en algunos microorganismos tolerantes a altas concentraciones de Cu, son los que se utilizan para la biorremediación microbiana

detallada en la sección 1.1.

### 1.3.5. Condiciones de óxido-reducción

Las condiciones reductoras generadas por una cantidad de agua elevada del suelo pueden aumentar la asimilabilidad del Cu. El mal drenaje, que evita el flujo de oxígeno en el suelo, crea condiciones reductoras que afectan la solubilidad de los óxidos de hierro y manganeso y esto a su vez condiciona la capacidad de sorción del suelo. Por ejemplo, en suelos con gley permanentemente inundados, los elementos que normalmente están sorbidos a óxidos se encuentran disponibles. Esta situación ocurre para cobalto, hierro, vanadio, cobre y manganeso. Otros metales como boro, cobalto, molibdeno y zinc no se ven afectados por el cambio en las condiciones redox.

Cabe mencionar que en condiciones de inundación severa y en suelos ácidos, el pH tiende a aumentar ligeramente, lo que también puede afectar la retención de metales (Alloway, 2013). En condiciones de inundación permanente algunos metales precipitan como sulfuros, haciéndolos insolubles como el  $\text{FeS}_2$  y el Cd (Alloway, 2013).

Por otra parte, en condiciones de inundación, el sistema radicular de la planta es directamente afectado y por lo tanto las posibilidades de captación de microelementos se ven reducidas (Loué, 1988).

### 1.3.6. Interacciones con otros elementos

La aplicación de altas cantidades de N y P al suelo disminuye la asimilabilidad de Cu, cuando el Cu está en bajas cantidades. Esto se debe a que el N adicional causa la formación de un mayor número de proteínas en las raíces, las que forman un mayor número de complejos Cu-proteínas.

El efecto del fósforo en su interacción con cobre, depende de la naturaleza del compuesto fosforado, el tipo de suelo y la especiación del metal con la cual interactúa. A pesar de ello, en general, el P causa la precipitación del cobre en las raíces de la planta, impidiendo su ingreso a ella. En el caso de fósforo adicionado al suelo, la reacción depende de si es un fósforo soluble (agroquímico) o insoluble (harina de roca). Los solubles acidifican el suelo y por tanto podrían provocar la desorción del cobre. En el caso de los insolubles, estos solo se disuelven si el suelo es ácido. Al liberarse, algunos metales precipitan con ellos. La hidroxiapatita (mineral común en el suelo,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) adsorbe al Cu, principalmente en pH alcalinos gracias al intercambio con el calcio. El principal mecanismo de acción del fósforo es la precipitación de fosfatos (torbenita, nisonita, veselita, etc.) con metales. La estabilidad de los precipitados es alta, siguiendo la secuencia  $\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Zn}$ . Cabe mencionar que tanto los fosfatos como los metales son rápidamente adsorbidos en el suelo, por lo que su interacción en general es baja, dándose ésta solo en condiciones reductoras o pH ácido (Bolan et al., 2003).

Asimismo la aplicación de Zn disminuye levemente la disponibilidad de cobre. Se ha demostrado que el Cu y el Zn compiten por los mismos sitios de absorción en las raíces vegetales (Adriano, 2001; Loué, 1988).

## 2. Cobre en la nutrición vegetal

El cobre es uno de los 7 microelementos tradicionales esenciales para la nutrición de



las plantas (Zn, Cu, Mn, Fe, B, Mo y Cl) (Adriano, 2001).

### 2.1. Esencialidad e insuficiencia de cobre en las plantas

Funcionalmente, el cobre ha sido identificado como constituyente de numerosas enzimas vegetales de oxidorreducción que participan en el metabolismo de las plantas, por ejemplo, en la reducción de nitratos, la fijación de nitrógeno atmosférico, el metabolismo de la pared celular y la fotosíntesis.

- Función en enzimas de la fotosíntesis: cerca del 70% del cobre está localizado en los cloroplastos foliares, en forma de proteínas complejas. Se deduce de ello que el Cu participa en la fotosíntesis. Ha sido demostrado que la enzima cloroplástica, la plastocianina, una proteína cúprica, interviene en el flujo de transporte de electrones, enlazando los dos sistemas fotoquímicos de la fotosíntesis, en diversas plantas superiores. En escenarios de deficiencia de Cu, disminuye la plastocianina y, con ello, la tasa de fijación de CO<sub>2</sub>, de modo que el contenido de almidón y carbohidratos también se reduce. Esta es la principal causa de que ante deficiencia de Cu disminuye la producción de biomasa.

- Función como parte de otras enzimas: Otras enzimas que contienen cobre son oxidasa del ácido ascórbico, diamina oxidasa, citocromo c oxidasa y polifenoloxidasas. El hecho de que la citocromo oxidasa contenga cobre confiere un papel esencial en el metabolismo al Cu; sin embargo, no está probado que la deficiencia del metal cause daño al crecimiento de la planta. La oxidasa del ácido ascórbico cataliza la oxidación del ácido ascórbico y está implicada en la respiración mitocondrial de muchos tejidos vegetales. Entre las polifenoloxidasas, la tirosinasa es una enzima muy importante que oxida la tirosina en presencia de oxígeno atmosférico, provocando el pardeamiento de los frutos.

- Función en desintoxicación de radicales: el Cu actúa como cofactor en la enzima superóxido dismutase (SOD), enzima que cataliza la dismutación/desproporción, que se produce cuando un elemento es al mismo tiempo oxidado y reducido cuando la suma de potenciales de los correspondientes pares redox es mayor de 0, de superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno (Hänsch y Mendel, 2009). La SOD se localiza en los estromas de los cloroplastos y su acción es muy sensible a la deficiencia de Cu.

- Otras funciones metabólicas del cobre: El cobre actúa no solamente como componente de enzimas; los iones libres de Cu pueden activar ciertos procesos metabólicos. El Cu interviene en la biosíntesis de proteínas, que se ve afectada en las plantas deficientes de Cu y también interviene en la fijación simbiótica del N (Hänsch y Mendel, 2009). En nódulos de leguminosas, al faltar el Cu, los nódulos se empobrecen en carbohidratos, por lo que su crecimiento se reduce y con ello la fijación de nitrógeno.

- Síntesis de ligninas con Cu: En las plantas, se ha demostrado el papel del Cu en el metabolismo secundario, específicamente en el proceso de lignificación. Las ligninas son constituyentes esenciales de las paredes celulares y por ello son importante defensa ante enfermedades (actúa como barrera mecánica y produce sustancias melanóticas como fitoalexina que defiende contra la entrada de hongos y esporas) (Nabors, 2006; Yruela, 2005).

Cabe mencionar que la plastocianina y la SOD conforman entre el 60 al 90% del cobre presente en las plantas (Hewitt, 1983).

En síntesis, el Cu cumple un rol importante en la planta, por lo que su insuficiencia afecta procesos fisiológicos (Mortvedt, et al., 1991). En general, la deficiencia de cobre reduce el desarrollo reproductivo más que el vegetativo (Adriano, 1986).

A nivel de síntomas, las deficiencias leves de Cu en las plantas sólo producen una reducción en la producción, retraso en la floración y senescencia, y menor llenado de la semilla. En casos más graves, el polen de las plantas no es viable. Deficiencias más severas producen clorosis y muerte descendente de los crecimientos terminales en las hojas (necrosis). Ante una deficiencia, el Cu no es translocado dentro de la planta, por lo que las diferencias aparecen primero en los brotes más jóvenes. Plantas deficientes en Cu desarrollan tallos débiles y parecen marchitarse ligeramente, inclusive bajo condiciones de humedad adecuada, además presentan enrollamiento y un excesivo brote de hojas en forma de roseta que hace aparecer frondosa a la planta (Epstein & Bloom, 2005; Kirkby y Romgel, 2007).

## 2.2. Contenidos de cobre en plantas normales

El cobre como nutriente vegetal es requerido solo en pequeñas cantidades. 5 a 20 ppm de cobre en un tejido se considera nivel adecuado para un crecimiento normal, menos de 4 ppm es considerado deficiente y, dependiendo de la especie, sobre un rango de 20 a 100 mg/kg se considera tóxico. Esto, en forma muy global, ya que los valores varían dependiendo de la especie vegetal y de las características y composición del suelo en particular (Epstein & Bloom, 2005; Adriano, 2001).

## 2.3. Absorción y movilidad de Cu en las plantas

El ritmo de absorción de cobre en las plantas es uno de los más bajos entre los elementos esenciales (Loué 1988).

En el suelo, los movimientos de los metales hacia las raíces se realizan por flujo convectivo, es decir, por la succión a nivel radicular, la cual aumenta con la transpiración de la planta, o por intercepción de las raíces con los metales (Narasimha & Prasad, 2004).

La absorción del Cu por las raíces de la planta sigue un mecanismo, de transporte activo o pasivo normal, solo que, en plantas normales, el número de proteínas transportadoras es menor y en suelos normales el Cu biodisponible para absorción también es menor.

Una vez dentro de las células de la epidermis, el cobre se mueve vía apoplástica hasta llegar a la endodermis, donde las bandas de Caspary obligan a pasar al simplasto. Este proceso se debe realizar vía transporte activo con el concurso de proteínas de membrana genéricas o específicas para cada metal (Ghosh & Singh, 2005). Una vez en la endodermis, el metal es transportado dentro del simplasto hasta llegar hasta la estela (cilindro central de la raíz) y liberado al xilema. En algunos casos, los metales son capturados en las raíces, siendo de esta forma inmovilizados, sin pasar a la biomasa aérea de la planta (Ghosh & Singh, 2005).

Una vez metabolizado, el Cu es muy poco móvil dentro de la planta, aunque se puede mover desde hojas viejas a nuevas o hacia estructuras permanentes en plantas bianuales o perennes (González, et al., 2008; Hocking & Pate, 1978; Loué, 1988). La movilidad también depende del nivel de Cu en la planta. En plantas deficientes, la movilidad es mucho más reducida (Loué, 1988).

A través de los vasos conductores, el cobre se transporta unido a aminoácidos, debido a la afinidad del Cu por el N de éstos, llegando así a los distintos centro fisiológicos (Loué, 1988).

### 3. Contaminación de suelos por cobre

#### 3.1. Concepto y definición legal de suelo contaminado por cobre

Científicamente, se define como un suelo “contaminado” por cobre, cuando este contiene concentraciones del elemento mayores a las naturales (background o línea de base<sup>58</sup>), como resultado de la actividad humana. Este nivel suele también denominarse “target value” o “valor objetivo” y en procesos de remediación suelo tomarse como el valor al que se debe llegar para restablecer totalmente las propiedades funcionales del suelo para la vida humana y los ecosistemas (VROM, 2001).

Sin embargo, muchas veces un suelo puede estar contaminado pero no causar efectos negativos en la biota o en la salud. Para evaluar si una determinada concentración de Cu causa riesgo a la salud o a la biota suelen realizarse evaluaciones de riesgo. El límite máximo de concentración de Cu que no representa un riesgo a la salud y/o biota se denomina en la mayoría de la normativa como “valor de intervención” (en inglés intervention value). Sobre este valor el suelo debe ser intervenido para evitar dichos riesgos (A I. Figura 2) (Ministry of Infrastructure and the Environment, 2013).

Por ejemplo, la normativa suiza, tiene como valor de intervención a 50 mg/kg de cobre total en el suelo y especifica además un máximo de 0,7 mg/kg de cobre soluble (Ansorena, 1996). La normativa canadiense, más específica, indica un valor máximo de 63 mg/kg de Cu total para el contacto dermal y un máximo de 1.100 mg/kg de Cu total en el suelo en el caso de su ingestión directa o ingestión de vegetales que crezcan en los suelos. La norma Italiana, tiene como valor de intervención a 120 mg/kg de Cu total en áreas verdes y urbanas y 600 mg/kg en zonas industriales (Decreto Legislativo 152/2006).



**A I.- Figura 2. Esquema de denominación de los niveles de contaminación de un suelo, en la normativa internacional**

Fuente: Ministry of Infrastructure and the Environment, 2013

<sup>58</sup> Este valor se calcula estadísticamente en base al límite superior del intervalo de confianza del 95% de los valores encontrados en suelos no contaminados, con similares características a los de las zonas contaminadas.

En Chile no existe una normativa o criterios oficiales que definan un suelo contaminado por cobre, por lo que usualmente se recurre a normativa internacional para hacer comparaciones. Sin embargo, recientemente el Ministerio de Medio Ambiente decidió avanzar en esta materia en el área de estudio, encargando un estudio del estado de contaminación metálica de suelos en Puchuncaví y Quintero, el cual incluía la determinación de los valores de fondo de concentraciones totales para metales traza. El valor final estimado para el background de Cu total fue de 68 mg/kg (PGS Chile, 2015). En esta tesis se usa este valor para delimitar el área afectada por la contaminación cúprica (Ver sección 3.1.6.4.).

### 3.2. Evolución hacia la incorporación de la biodisponibilidad en el concepto de suelo contaminado por metales

Si bien los métodos de evaluación de riesgo por exposición a suelos contaminados se basan y se han basado históricamente en las concentraciones totales de los contaminantes, hoy en día se conoce que el daño provocado por metales en el suelo (en la biota o salud humana) depende en realidad de la fracción biodisponible de los metales y no de la fracción total. Esto significa que actualmente los resultados de las evaluaciones de riesgo han sobreestimado los riesgos reales, lo que además involucra que los estados que han tomado acciones de remediación, están gastando un presupuesto mucho mayor que el realmente necesario, en remediar sitios donde el riesgo real a la salud o la biota no es realmente alto (ITRC, 2011).

La fracción disponible es significativamente menor que la concentración total (ver sección 1.3 de este anexo). Por esto, variadas investigaciones proponen que las evaluaciones de riesgo deben realizarse considerando el concepto de biodisponibilidad (Jensen y Mesman, 2006). Incluso algunos países ya están avanzando hacia normativa que incorpore el concepto de biodisponibilidad (Ortega-Calvo et al., 2105).

Sin embargo, en pos de realizar una evaluación realista de la efectividad de la remediación, considerando que las plantas solo absorben la fracción biodisponible y que a la vez, solo la fracción biodisponible puede causar riesgo a la salud y a la biota, el “target value” a alcanzar con los procesos de fitorremediación desarrollados en esta tesis fue definido en base al Cu disponible medido en zonas “control” que se definieron en base a criterios similares a los considerados en el estudio desarrollado por el Ministerio de Medio Ambiente Chileno (ver sección 5.2).

### 3.3. Causas de contaminación de suelos por cobre

La contaminación de suelos por cobre proviene principalmente de dos fuentes, la agricultura y la minería (Loué, 1988).

#### 3.3.1. Agricultura

Muchos agroquímicos como herbicidas, insecticidas, fertilizantes, etc. contienen trazas de metales, entre ellos el cobre (en forma de sulfato de cobre). La fuente más ampliamente utilizada de cobre en la agricultura es el  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (25,5% de Cu), soluble en agua. También se utilizan óxidos de cobre ( $\text{CuO}$ , 75% Cu;  $\text{Cu}_2\text{O}$ , 89% Cu) y sulfato de cobre básico ( $[\text{CuSO}_4 \cdot 3\text{Cu}(\text{OH})_2]$ , 13 a 53% de Cu). El

uso de estos productos se intensificó desde la revolución industrial, dejando muchos suelos agrícolas contaminados con trazas de metales pesados (Kabata-Pendias & Pendias, 2000). También se ha reportado que el uso de aguas residuales en la agricultura podría provocar la contaminación de los suelos con cobre (Acosta, 2007).

En Europa, los distintos reglamentos que regulan la agricultura ecológica han limitado los aportes de Cu al suelo hasta un máximo de 6kg de cobre metal por hectárea y año desde 2006.

### 3.3.2 Minería

La contaminación de suelos por Cu proviene de los materiales de desecho del proceso productivo, es decir, estériles, relaves y emisiones de fundición.

- Los relaves son material de descarte proveniente de la concentración de mineral que contiene altas concentraciones de minerales. Si el relave proviene de una fundición de cobre, este será el elemento predominante en la pila de material. El sitio aledaño al lugar de instalación de un relave, inevitablemente recibirá el material particulado proveniente de la erosión eólica en la superficie de éste y el drenaje ácido cargado de contaminantes, cuando hay episodios de lluvia, que además puede contaminar cursos de agua cercanos (Ginocchio y León-Lobos, 2007). Esto, sin contar los numerosos accidentes por fallas en los que se desmorona parte de los relaves por licuefacción, aluviones o sismos u otras causas, contaminándose gravemente los suelos, que pueden ser agrícolas, además de los cursos de agua relacionados (Asami, 1988; Ginocchio, Rosana, 2004).
- La escoria es el desecho resultante de la fundición del mineral y contiene una alta concentración de cobre (mayor al relave), pudiendo incluso reciclarse y obtenerse una proporción de cobre o ser utilizada como materia prima en la industria de la construcción. Esto generalmente lo hace una empresa externa a la que lo produce, por su elevado costo. Si las escorias no son vendidas se acumulan, constituyendo un residuo altamente peligroso (Comisión Nacional de Medio Ambiente, 1998) que se dispersa con el viento, contaminando suelos aledaños (por ej., Navarro, 2008).
- Los estériles se constituyen de material remanente del proceso de prospección; aunque contienen menores concentraciones de mineral que los relaves, igualmente constituyen una fuente de contaminación puntual para la zona donde se acopia, además de perderse el hábitat natural del sector y verse afectada la estética del entorno (Ginocchio, Rosana, 2004). También es posible, principalmente en ambiente ácido, que la lluvia genera lixiviados y, con ello, contaminación de cursos de aguas subterráneas o superficiales (López, 2011).
- Finalmente las fundiciones de minerales afectan áreas mucho mayores que las de las fuentes anteriores. Durante el proceso de fundición se generan una serie de compuestos, denominados en forma genérica material particulado (PM), el cual está formado por partículas suspendidas con un tamaño que está en un rango de entre 0,001 y 50 µm. Estas partículas corresponden a metales pesados, entre otros compuestos. Además, durante la fundición se emite en forma gaseosa dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) (de Gregori et al., 2003). Posteriormente, el viento contribuye a dispersar estas emisiones provenientes de las chimeneas, alcanzando finalmente los suelos de las áreas aledañas, siendo más afectadas aquellas que están a sotavento de los vientos predominantes y formando un gradiente de concentración inverso a la distancia con respecto a la fuente industrial (González et al., 2014; Taylor et al., 2010; Aznar et al., 2008).

El material particulado proveniente de las fundiciones es rico en Cu y en menor grado As, Pb, Mo y Zn, entre otros (González, 1994).

La superficie terrestre directamente alterada por la industria minera es relativamente baja a nivel mundial, sin embargo es alta en algunos países mineros. Por ejemplo en Estados Unidos 3,7 millones de hectáreas están degradadas por la minería, en China 2 millones de hectáreas y en Sudáfrica 0,2 millones de hectáreas. Para el caso de Chile no existen cuantificaciones oficiales de superficie afectada; sin embargo, los casos de degradación en áreas mineras son bien conocidos (se detallan en el Anexo II, sección 2) (Ginocchio, Rosana, 2004).

### 3.4. Efectos de la contaminación por cobre

Como se expuso anteriormente la contaminación del suelo por cobre está interrelacionada con otras matrices ambientales, ya que la contaminación del suelo puede afectar los cursos de agua, y además, por resuspensión, afectar la calidad del aire. Muchas veces es la contaminación atmosférica la que causa posteriormente la contaminación del suelo por deposición húmeda o seca.

Se debe indicar, que en el caso de las fundiciones de cobre, las emisiones de metales vienen acompañadas de anhídrido sulfuroso, que causa también efectos adversos en los ecosistemas y la salud humana. En la naturaleza, se dan los efectos combinados, por lo que en algunos casos se comentarán también sus efectos en cada caso.

#### 3.4.1. Efectos del cobre en salud humana

La absorción del cobre por los seres humanos es necesaria, porque es un elemento traza esencial para la salud. Sin embargo, aunque los humanos pueden manejar concentraciones de cobre proporcionalmente altas, su exceso puede causar problemas de salud. Las intoxicaciones por cobre son más probables por inhalación o por contacto dérmico, que por ingestión, ya que en los primeros casos pasa directamente a la sangre, mientras que por ingestión debe atravesar distintas barreras en el sistema gastrointestinal. Una vez que llega a las células, el Cu causa estrés oxidativo, porque provoca el aumento de los radicales libres que son quienes causan daños a los tejidos (Li & Trush, 1993). El cobre ni sus compuestos no son cancerígenos para el hombre (Eisler, 1998).

##### 3.4.1.1. Cobre en aire

El cobre presente en el aire corresponde al emitido por la fuente contaminante, y que aún no se deposita en el suelo. Este viene en forma de material particulado (MP), acompañado de otros elementos, además de SO<sub>2</sub>. De este PM, la fracción >10 µm queda atrapado en la nariz, gracias a los cilios y mucosa. La fracción respirable, con diámetro aerodinámico menor o igual a 10 µm (PM<sub>10</sub>), penetra a diferentes profundidades del sistema respiratorio. Las partículas cuyo diámetro es mayor a 5 µm se depositan en las vías aéreas altas (nariz), tráquea y bronquios. Aquellas partículas con diámetro aerodinámico igual o menor a 2,5 µm son 100% respirables (PM<sub>2,5</sub>), se depositan en bronquiolos y alvéolos pulmonares, siendo más peligrosas mientras más pequeñas son. Las partículas más pequeñas que 0,5 µm pueden penetrar los mecanismos de defensa del sistema respiratorio y depositarse en los alvéolos pulmonares, pasando luego directamente a la sangre (Cohen & Hering, 1995; Nagar et al., 2014)

Exposiciones a corto plazo a una atmósfera cargada de MP rico en cobre y SO<sub>2</sub> puede irritar la nariz, la boca y los ojos y causar dolor de cabeza, de estómago, mareos, vómitos y diarreas. La exposición a más largo plazo produce sibilancias, producción de flema, falta de aliento e irritación respiratoria. También aumenta la incidencia de bronquitis en niños con asma (Nagar et al., 2014). La exposición profesional ocurre principalmente en mineras, donde el continuo contacto con cobre puede llevar a “coger” una gripe conocida como fiebre del metal. Esta fiebre pasa después de dos días y es causada por una sobre-sensibilidad al Cu (Maita, 2008).

Por otra parte, Costa y Dreher (1997) indican que la dosis de metales biodisponibles en el material particulado se relaciona estrechamente con lesiones asociadas con el sistema cardiopulmonar, a largo plazo.

Existen estudios en USA que asocian la exposición permanente a MP y SO<sub>2</sub> con el aumento de la mortalidad prematura por cáncer de pulmón (aunque el Cu no es cancerígeno, el MP trae consigo otros metales) y enfermedades cardiovasculares (Nagar et al., 2014). La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA) ha establecido un límite de vapores de cobre en el aire de 0.1 mg/m<sup>3</sup> (Daghan, 2004).

#### 3.4.1.2. Cobre en agua

En 1993, la Guía sobre Calidad del Agua Potable de la OMS incluyó al cobre, en forma provisional, dentro del listado de elementos (sustancias) con significación para la Salud Humana, junto a otros metales de reconocida toxicidad. En la última reunión sobre la nueva Guía sobre Calidad del Agua Potable de la OMS (finalizada en Marzo 2003), la posición del cobre fue defendida por expertos chilenos que respaldaron científicamente que la OMS aprobara un valor de 2 mg/L, en forma definitiva, como parámetro seguro y afianzado para los niveles de cobre en el agua potable (COCHILCO, 2004). A nivel científico se ha establecido el Nivel Sin Efectos en el organismo (NOAEL) a 2 mg/L y el Nivel con Efectos Adversos Mínimos para náusea (LOAEL) a 4 mg/L (Olivares et al., 2001).

El cobre generalmente se ha encontrado en aguas de bebida debido a la corrosión de cañerías metálicas o a la contaminación de aguas de pozo en zonas agrícolas, por uso de agroquímicos. Sin embargo, no se ha asociado mayormente a efectos de la minería, a excepción de eventos de derrumbe de relaves o lixiviación de pilas de escoria o estériles que afectan cursos de aguas cercanos, que pueden ser consumidos en forma “informal” por pobladores en zonas agrícolas, aunque es poco frecuente (Navarro, 2008; López, 2011).

Estudios han revelado que a corto plazo, un consumo diario de agua con 3 mg/L produce dolor estomacal, diarrea y vómitos. Los síntomas desaparecen cuando se deja de beber el agua contaminada (Pizarro et al., 1999). Otros estudios indican que los efectos significativos se observan a 4-6 mg/L (Araya et al., 2001). Estudios específicos indican que un consumo de 30 mg/L, e incluso un consumo de 190-220 mg/L en adultos, presentaron los mismos síntomas en las víctimas, sin provocar la muerte (McMullen, 1971; Nicholas, 1968). Se han descrito también erupciones cutáneas por ingestión de agua con 7,6 ppm de este metal (Roberts, 1981).

Los casos más graves de intoxicación por Cu provocan taquicardia e hipertensión que pueden ir seguidos por ictericia, anemia hemolítica, uremia y muerte. Por ejemplo, en un infante de 1 año un consumo constante de agua con 2,2-3,4 mg/L (tubería de cobre) causó daño hepático y su posterior muerte (Müller-Höcker et al., 1988). Los infantes son mucho más sensibles que los adultos a las dosis de contaminantes.

### 3.4.1.3. Cobre ingerido a través de alimentos

El cobre presente en el suelo puede entrar al ser humano vía ingesta de productos contaminados, es decir, alimentos que se desarrollaron en suelos contaminados o fueron regados con agua contaminada con Cu.

La OMS estima que la ingesta diaria aceptable de cobre en un adulto que pesa entre 50 y 70 Kg es de 1 a 1,2 mg/kg?

Cuando se consumen altas dosis de alimentos contaminados por Cu, los síntomas son similares a los que produce el consumo de agua levemente contaminada por cobre, cuando la ingesta es leve. Esto es porque el cobre llega al estómago unido a diversos componentes de la dieta (proteínas, lípidos, otros), estando menos disponible para interactuar con la pared del estómago que cuando está en estado iónico (como cuando se ingiere en solución). Además, el cobre que elude la absorción gastrointestinal se almacena en el hígado o la bilis y es excretado en las heces (Eisler, 1998). Una ingesta de menos de 10 mg/día (5 meses) ha demostrado no causar efectos en la salud. Por esto la toxicidad por ingestión de comidas ricas en cobre es rara, y es más frecuente cuando se ingiere en forma líquida, como sales de cobre disueltas en agua (Torres, 2005; Uriu-Adams & Keen, 2005). De todos modos, una ingesta constante de cobre, o una ingesta de altas dosis (intencionalmente), pueden causar a largo plazo anemia, daño al hígado y los riñones e incluso la muerte (Gaetke & Chow, 2003).

Un caso especial es la enfermedad de Wilson, en la que se produce una acumulación de cobre en el hígado y sistema nervioso central, debido a la incapacidad del cuerpo humano de excretarlo. En este caso una ingesta mínima puede causar severos daños (Van Campen, 1991). La intoxicación aguda puede causar la muerte. Por ejemplo, ya en el siglo XVIII Percival (1784) reportó que un consumo de 100-130 g en un joven (17 años) causó dolor abdominal, flatulencia, vómito, arritmia y muerte a los 8 días de la ingesta.

### 3.4.2. Efectos en animales

En animales es rara la intoxicación por ingestión. Sin embargo, el ganado es especialmente susceptible a la contaminación metálica, observándose su desaparición en áreas afectadas por emisiones de fundiciones de minerales. Ello proporciona un indicador biológico útil para dimensionar la distribución espacial y magnitud de este proceso contaminante. La declinación de las explotaciones ganaderas, medida por la pérdida de la capacidad productiva y reproductiva, y una mayor tasa de morbilidad y mortalidad, siendo el ganado ovino el primero en verse afectado. Estos problemas desaparecen si los animales son trasladados a zonas no contaminadas (García-Rubio et al., 2000).

En ensayos controlados con ratas preñadas, se ha probado que el cobre ingerido se transmite a los fetos, almacenándose en el hígado y retardando la formación de los centros primarios de osificación (CPO) (Acuña et al., 1999).

En el caso de las fundiciones de Cu, la experiencia acumulada dice que, no obstante encontrarse acumulaciones importantes de cobre en hígado y riñones de animales muertos, cuando éstos se alimentan de praderas contaminadas por cobre proveniente de fundiciones, la sintomatología no es sólo atribuible a este elemento; es indudable que los animales afectados por emisiones de fundiciones de cobre se



ven sometidos a una intoxicación polimetálica, unida a la presencia de SO<sub>2</sub> en la atmósfera (González & Berqvist, 1986). Los animales monogástricos son más tolerantes a altas cantidades de cobre que los rumiantes, entre los cuales las ovejas son especialmente sensibles. Por ejemplo, en ensayos controlados, en los que se alimentaron ovejas con alimento contaminado con polvos de fundición, se demostró que una ingesta de 400 mg de cobre, además de 120 mg de Zn, 970 mg de Fe y otros contaminantes, provocó la muerte del 30% de los individuos entre los 30 y 40 días de tratamiento. En el resto de los individuos se presentó diarrea, inapetencia, desnutrición y caída de la lana corporal (Elgerwi et al., 1999). En un experimento similar, aportando 500 mg de cobre en la dieta (entre otros contaminantes), se obtuvo 11% de muertes al año después del inicio del ensayo, en ovejas Merinas. La necropsia reveló un color oscuro y necrosis en los riñones, hígado y pulmones ictericos, y hemorragia en el pericardio (A I.- Figura 3). En el mismo ensayo, las ovejas raza Castle, no resultaron afectadas, lo que evidencia fuertes diferencias de resistencia entre genotipos (Headley et al., 2008).



**A I.- Figura 3. Imágenes de riñones oscurecidos e hígado icterico por la toxicidad por cobre, en una oveja hembra raza Merina.**

Fuente: Headley et al., 2008

En relación a organismos marinos, la toxicidad por cobre depende de la concentración de ion cúprico Cu<sup>+2</sup> o de algunos complejos hidroxilos en el agua. En peces, el exceso de cobre en el agua causa daños en las agallas e interfiere con la osmoregulación. Las elevadas concentraciones de cobre impiden el transporte de oxígeno y el metabolismo energético. La hipoxia en tejidos es una de las causas de muerte a altas concentraciones del elemento, asociado con la reducción de la actividad de las enzimas reguladoras de ATP (Eisler, 1998). Estudios en invertebrados marinos de la epifauna indican que la presencia de cobre inhibe la colonización del suelo marino por *Peramphithoe parmerong*. Asimismo disminuye su sobrevivencia al alimentarse de algas contaminadas (Roberts et al., 2006).

#### 3.4.3. Efectos en especies vegetales

Para la mayoría de las especies vegetales, los contenidos demasiado elevados de cobre asimilable en el suelo son tóxicos e incluso pueden causar la muerte (Mocquot et al., 1996; Weckx & Clijsters, 1996). Dentro de la planta y dependiendo de la especie, entre 20 y 100 mg/kg de Cu en la biomasa, constituyen los intervalos de toxicidad (Adriano, 2001).

El mecanismo a través del cual el Cu causa daño en los tejidos vegetales es mediante su ciclo de oxidorreducción (Cu<sup>+2</sup>→Cu<sup>+</sup>), que induce a la formación de

especies oxígeno reactivas (ROS) como peróxido de hidrógeno ( $O_2^{-2}$ ), radicales hidroxilo ( $H_2O_2 \rightarrow \cdot OH$ ), superóxido radical ( $O_2^{\cdot -}$ ) u otros<sup>59</sup>. Por ejemplo, para radicales hidroxilo la reacción es (Halliwell & Gutteridge, 1984; Schützendübel & Polle, 2002):



Estos compuestos radicales reaccionan casi con cualquier biomolécula que los rodee, produciendo radicales secundarios u orgánicos (radical derivado del primario, que también provocan daños celulares, y a su vez produce otros radicales, terciarios, por ej. peróxido (ROO-)). En general, cuando la oxidación predomina por sobre la antioxidación, se produce daño celular. Los radicales al oxidarse afectan el DNA; proteínas, lípidos y otras biomoléculas, por ejemplo, afectan las membranas fotosintéticas, por lo que la tasa fotosintética disminuye. Este proceso se denomina estrés oxidativo y puede causar menor crecimiento de órganos (particularmente en las raíces), necrosis, clorosis (A I.- Figura 5) y la muerte de la planta (De Vos et al., 1991; Yruela, 2005).

La clorosis por exceso de cobre puede tener dos explicaciones. Algunos estudios indican que el estrés por cobre provoca una disminución en el tamaño y número de los cloroplastos (A I.- Figura 4), por lo que se provoca la deficiencia de clorofila, que provoca una clorosis. Otros estudios sugieren que la clorosis es generada, en presencia de exceso de cobre, porque el Cu desplaza al Fe (y también otros nutrientes) de centros fisiológicos importantes, impidiendo la síntesis de clorofila (Panou- Filotheou et al., 2001; Yruela, 2005).

Los efectos fisiológicos directos, como la reducción del volumen de las raíces, pueden causar también efectos fisiológicos secundarios. Un estudio en orégano (*Origanum vulgare*) demostró que el exceso de cobre, además de reducir el volumen radicular, aumentó el número de pelos glandulares en las hojas y disminuyó el tamaño de los estomas, al mismo tiempo que se disminuía dramáticamente el número de cloroplastos. El aumento del número de tricomas explicaba por qué la planta, al tener menos raíces, absorbe menos agua que una planta en condiciones normales. Por esto, la planta bloqueaba la apertura de estomas, para prevenir la transpiración como forma de ahorro de agua, mediante el aumento del número de tricomas y la disminución del tamaño de los estomas (Panou- Filotheou, et al., 2001).

---

<sup>59</sup> Los radicales libres (RL) son átomos o moléculas que tienen uno o más electrones desapareados, se incluyen en los radicales primarios los átomos de hidrógeno, metales de transición, el oxígeno y el radical-anión superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ), entre otros. Los RL son extraordinariamente reactivos y muy inestables, reaccionando por regla general muy deprisa en los medios donde se forman con el objetivo de conseguir que los electrones estén apareados, siendo su vida media en ocasiones muy inferior a una milésima de segundo, por lo que la inmensa mayoría de ellos constituyen materia efímera e intangible, imposible de aislar, almacenar y manejar. Normalmente se generan en los procesos metabólicos, el problema es cuando se generan en exceso, producto de algún estrés.



**A I.- Figura 4. Secciones del mesófilo (x2800) de una hoja mostrando una célula vegetal normal (A) y una célula de una planta expuesta a altas concentraciones de cobre (B).**

Las células del mesófilo normal contienen mayor número de cloroplastos y de mayor tamaño que las células de la planta expuesta al cobre.

Fuente: Panou- Filotheou *et al.*, 2001



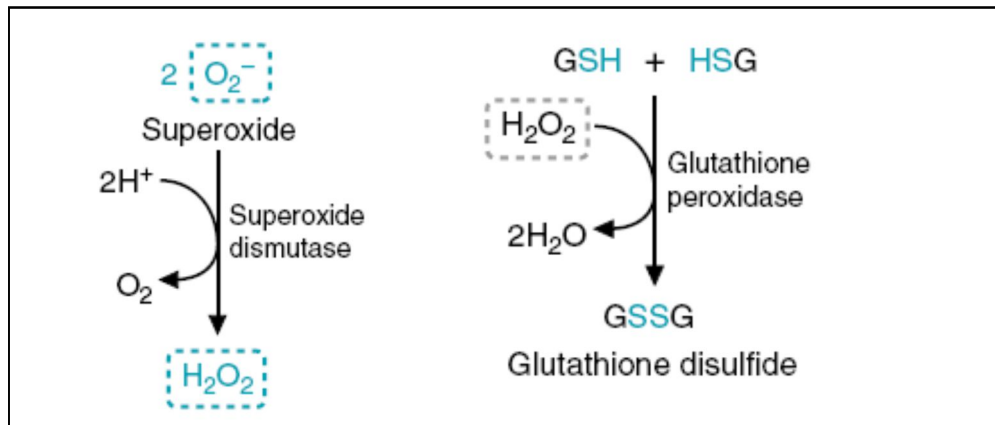
**A I.- Figura 5. Planta de *Oenothera picensis* expuesta a 500 mg/l de  $\text{CuSO}_4$  en medio hidropónico. Se observa la clorosis intervenial y necrosis en las hojas**

Fuente: Elaboración propia

En respuesta al estrés oxidativo, la planta aumenta la producción de antioxidantes con el fin de metabolizar los radicales<sup>60</sup>. Estos antioxidantes pueden ser las enzimas peroxidasas (PODS) como la Glutación Peroxidasa y Glutación Reductasa (GSH-Px y GRd), que actúan coayudados del Glutación, también la Ascorbato Peroxidasa (APOD), la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD) (Li., et al., 2000; Nagajyoti et al., 2010). Por ejemplo, la superóxido dismutasa

<sup>60</sup> Los antioxidantes actúan quitando intermediarios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos.

degrada las especies reactivas de oxígeno. Asimismo la GSH elimina el peróxido de hidrógeno (A I.- Figura 6); este efecto es mayor en especies resistentes.



**A I.- Figura 6. Esquema de la defensa antioxidativa de la Superóxido dismutasa (izquierda) y la Glutatión peroxidasa (derecha).**

Fuente: Rodríguez, J., 2008

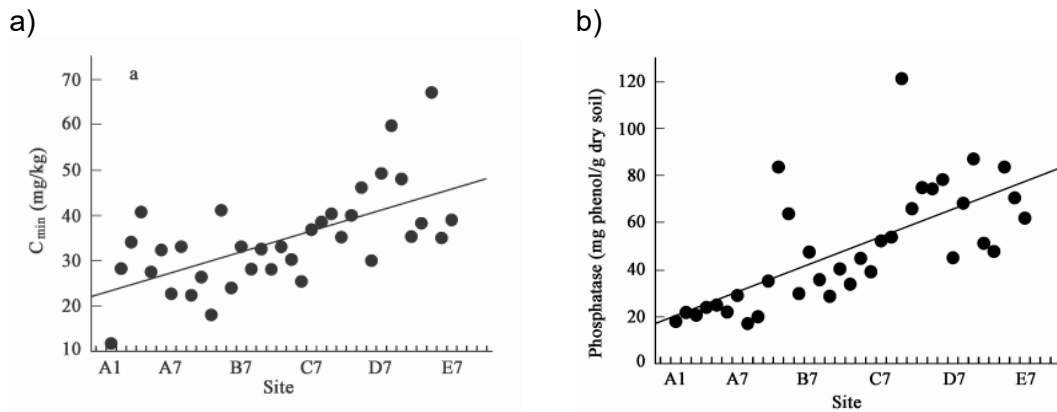
Por otra parte, en el caso de las fundiciones de cobre, donde el  $\text{SO}_2$  está presente en el aire, éste es absorbido por los estomas y se transforma en sulfito, 30 veces más tóxico que el sulfato. El  $\text{SO}_2$  también causa destrucción de la clorofila e interrupción de la fotosíntesis. Exteriormente, una exposición aguda produce, en un lapso de horas, necrosis en bordes y clorosis en nervaduras y, en casos de sensibilidad, la muerte (González & Berqvist, 1986). Exposiciones más severas generan la abscisión de las hojas desde el pecíolo. Cuando las hojas están húmedas, el  $\text{SO}_2$  se convierte en ácido sulfúrico, generando un nuevo daño por necrosis en el área afectada. La exposición crónica a niveles bajos genera la reducción de la biomasa de la planta, sin generar otros síntomas visibles (Peter-Singh et al., 2012).

Por todo lo anterior, la contaminación por cobre en suelos, unida a la presencia de  $\text{SO}_2$  en el caso de las fundiciones de cobre, causa la disminución o pérdida de la cobertura vegetal y disminución en la diversidad y riqueza vegetal. Esto, por la muerte de individuos o semillas, o por la incapacidad de éstas para germinar en un medio adverso (Nieminen, 2004).

#### 3.4.4. Efectos en rizósfera

El exceso de cobre y otros metales afecta la biodiversidad, biomasa y actividad enzimática de microorganismos (fosfatasa, encargada de solubilizar el fósforo del suelo), incluyendo bacterias, micorrizas, microfauna (nemátodos), etc. Wang et al. (2007) estudiaron el efecto de la contaminación cúprica y de Zn (en base a fracciones disponible) proveniente de una fundición en Zhujiawu County, Provincia de Zhejiang, China, sobre los microorganismos en un gradiente de distancias (50 a 600 m) evidenciándose una disminución de la biomasa microbiana y de las enzimas fosfatasas (producidas por los microorganismos) (A I.- Figura 7, Wang et al., 2007).

Por otro lado, la disminución de bacterias descomponedoras provoca un retraso en la descomposición de la materia orgánica, lo que causa una menor disponibilidad de nutrientes en el suelo (Kuperman & Carreiro, 1997; Wong, M. H., 2003).



**A I.- Figura 7. Efecto de la distancia a la fuente contaminante de metales, sobre la biomasa microbiana (a,  $C_{min}$ ) y cobre la actividad fosfatasa (b, Phosphatase).**

A1= 50-150 m de fundición; E7=lejos de fundición, 500-600 m  
Fuente: Wang et al., 2007

### 3.4.5. Efectos sobre la productividad del suelo

Muchas veces la actividad minera se ubica en las cercanías de suelos agrícolas, afectando significativamente su productividad y afectando con ello la calidad de vida de la población rural. La pérdida de cobertura vegetal debido a la contaminación cúprica (toxicidad) provoca un aumento de la erosión hídrica y eólica, lo que provoca la pérdida continua de nutrientes del suelo, especialmente N. Por otro lado, la disminución de la cobertura vegetal disminuye el aporte de materia orgánica al suelo, que constituye una fuente de nutrientes al suelo, además de retardarse su descomposición por la falta de microorganismos (como se mencionó en apartado anterior) (Galbraith et al., 1995; Lasat, 2000; Wong, 2003). Estudios han reportado que los suelos afectados por contaminación metálica, han reducido entre un 30 a un 60% su productividad agrícola (Aragon & Rud, 2012).

### 3.5. El peligro del exceso de cobre en el ecosistema

A pesar de que el cobre es un metal que actúa como micronutriente esencial para las plantas, y también animales y hombre, al presentarse en excesivas cantidades, puede provocar toxicidad en vegetales, y a través de la cadena trófica, en animales y humanos, alterando gravemente los ecosistemas y las actividades agrícolas.

Hoy en día la principal fuente de contaminación por cobre es la minería y en menor proporción la agricultura. La contaminación por cobre proveniente de la minería se presenta en todas las matrices ambientales, aire, agua y suelo, traspasándose los efectos de una matriz a otra, en forma inevitable. Por lo anterior, la importancia de remediar esta contaminación tiene, o debería tener, un carácter prioritario, sobre todo en los sitios más afectados, y aún más en sitios cercanos a centros poblados, donde el riesgo de afectar la salud es alto.

Por otro lado, la contaminación metálica no es biodegradable, por lo que los impactos pasados han permanecido en los ecosistemas a través del tiempo, acumulándose y empeorando la calidad ambiental de las áreas relacionadas.

**ANEXO II**  
**CONTAMINACIÓN POR COBRE PROVENIENTE DE LA**  
**MINERÍA EN SUELOS CHILENOS**



En este capítulo se describe brevemente la actividad minera del país, principalmente la minería del cobre y su relación histórica con la temática ambiental. Posteriormente se identifican los principales impactos ambientales negativos provenientes de la actividad minera, centrándose en los impactos de la minería del cobre. Finalmente se caracteriza a grandes rasgos el estado de la contaminación por cobre en los suelos del país y los efectos que ha traído dicha contaminación en las distintas matrices ambientales, según la investigación realizada hasta el momento.

## 1. Minería del cobre en Chile

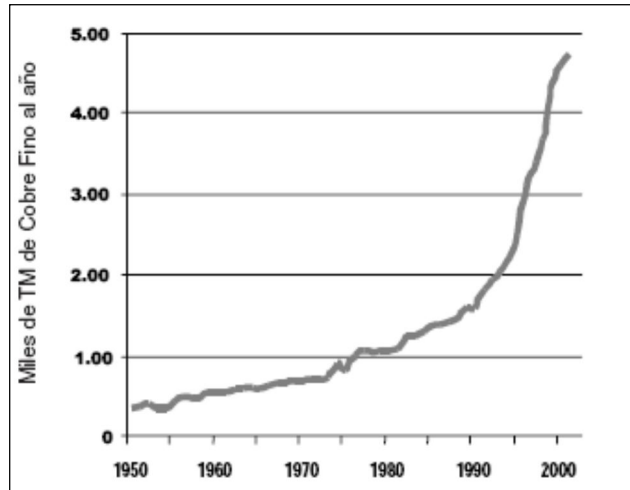
En los yacimientos del país se encuentran entre el 25 y 30% de los recursos metálicos a nivel mundial (López et al., 2003). Estos yacimientos se concentran principalmente en las zonas norte y centro del país, donde han sido explotados intensivamente desde el siglo XVI. La actividad minera concentra el 1% de la fuerza laboral del país, y el 11,2% del PIB nacional (94.100,3 US\$) (SONAMI, 2015; Lagos, 1997).

Dentro de la actividad minera, la producción de cobre es particularmente importante. Esta actividad ha crecido rápidamente en el país, especialmente a partir de los 90's<sup>61</sup> (A II.-Figura 1). Los productos de la explotación de yacimientos cupríferos son en su mayoría utilizados como materia prima para procesos de refinación, de los cuales se obtiene cobre de alta pureza. Hoy en día, se producen anualmente en el país aproximadamente 5,56 millones de toneladas de cobre, 3.777 millones de ton de concentrados y 1.500 millones ton de productos de fundición. Este nivel de producción determinó que ya en los años 1840 a 1880 la producción chilena de cobre alcanzara el 50% de la producción mundial, constituyéndose como el primero productor de cobre en el mundo. La mayor producción de cobre se concentra en la II región, donde se produce más del 50% del total del país (A II.-Figura 2) (COCHILCO, 2007, 2008; 2010; Folchi, 2003; SERNAGEOMIN, 2007).

---

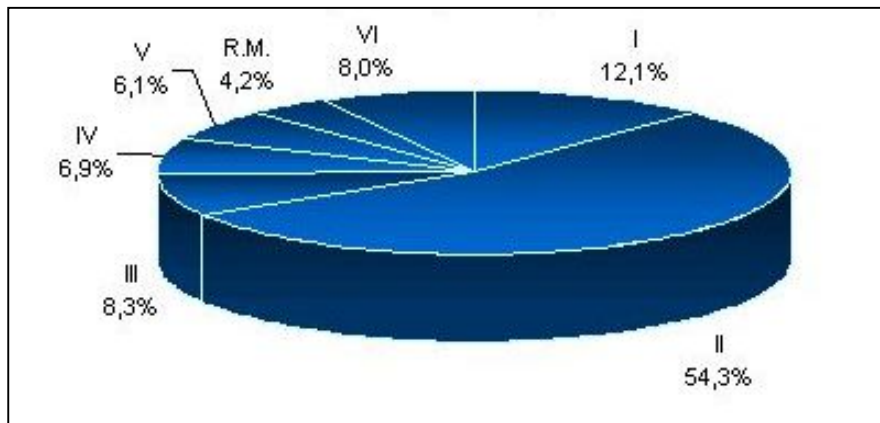
<sup>61</sup> Esto debido a dos razones, el aumento de yacimientos en propiedad del estado y la proliferación de proyectos mineros privados, en su mayoría extranjeros





**A II.-Figura 1. Producción chilena de cobre en período 1950-2001**

Fuente: Braun, 2000; Comisión Chilena del Cobre (COCHILCO), 2001



**A II.-Figura 2.- Participación regional en la producción de cobre nacional**

Fuente: SERNAGEOMIN, 2007

Del total de la producción anual de cobre en Chile, el 97% se exporta, mientras el 3% restante abastece a la industria manufacturera nacional. El cobre es el principal producto de exportación del país, 56% de las exportaciones 37.913 miles U\$ FOB (fuente y año).

Según su capacidad de producción, las mineras en Chile se clasifican en: empresas pequeñas (<300 ton/día), medianas (entre 300 y 8000 ton/día) y grandes (> 8000 ton/día). Existen 24 grandes mineras en el país, 29 medianas mineras y 1663 pequeñas mineras. En la AII.-Figura 3 se muestra la distribución de las grandes explotaciones mineras en el país.

Las grandes mineras en Chile pertenecen básicamente a las empresas nacionales CODELCO y ENAMI (30%) y el resto a empresas privadas, mayormente extranjeras (70%). CODELCO Chile, la Corporación Nacional del Cobre, es una empresa estatal autónoma, la más grande del país en la minería del cobre y la principal productora de cobre del mundo (posee 20% de las reservas del planeta). En la actualidad, CODELCO se estructura en cuatro divisiones mineras: CODELCO Norte (Chuquibambilla y Radomiro Tomic), El Salvador, El Teniente y Andina, más la División Ventanas, que es Fundición y Refinería. Además, participa en la Sociedad Contractual Minera El Abra, con el 49%, además de tener diversas asociaciones con

otras compañías para la exploración minera en Chile y el extranjero. Entre las empresas privadas, propietarias de 21 grandes explotaciones mineras en el país se cuentan: BHP Billiton, Anglo American, Minera Escondida Ltda., Antofagasta PLC, entre otras (AII.-Figura 3) Comisión Chilena COCHILCO, 2004b). La producción anual de cada una de las grandes empresas mineras del país se entrega en la A II.-Tabla 1.

**A II.- Tabla 1. Producción de cobre en las grandes empresas mineras chilenas**

<b>Empresa minera</b>	<b>Ton anuales</b>
División CODELCO Norte	896.300
El Salvador	63.900
La Escondida	1.483.000
Andina	218.400
El Teniente	404.700
Candelaria	181.000
Cerro Colorado	60.300
Quebrada Blanca	66.800
Michilla	45.100
Zaldívar	96.200
El Abra	194.100

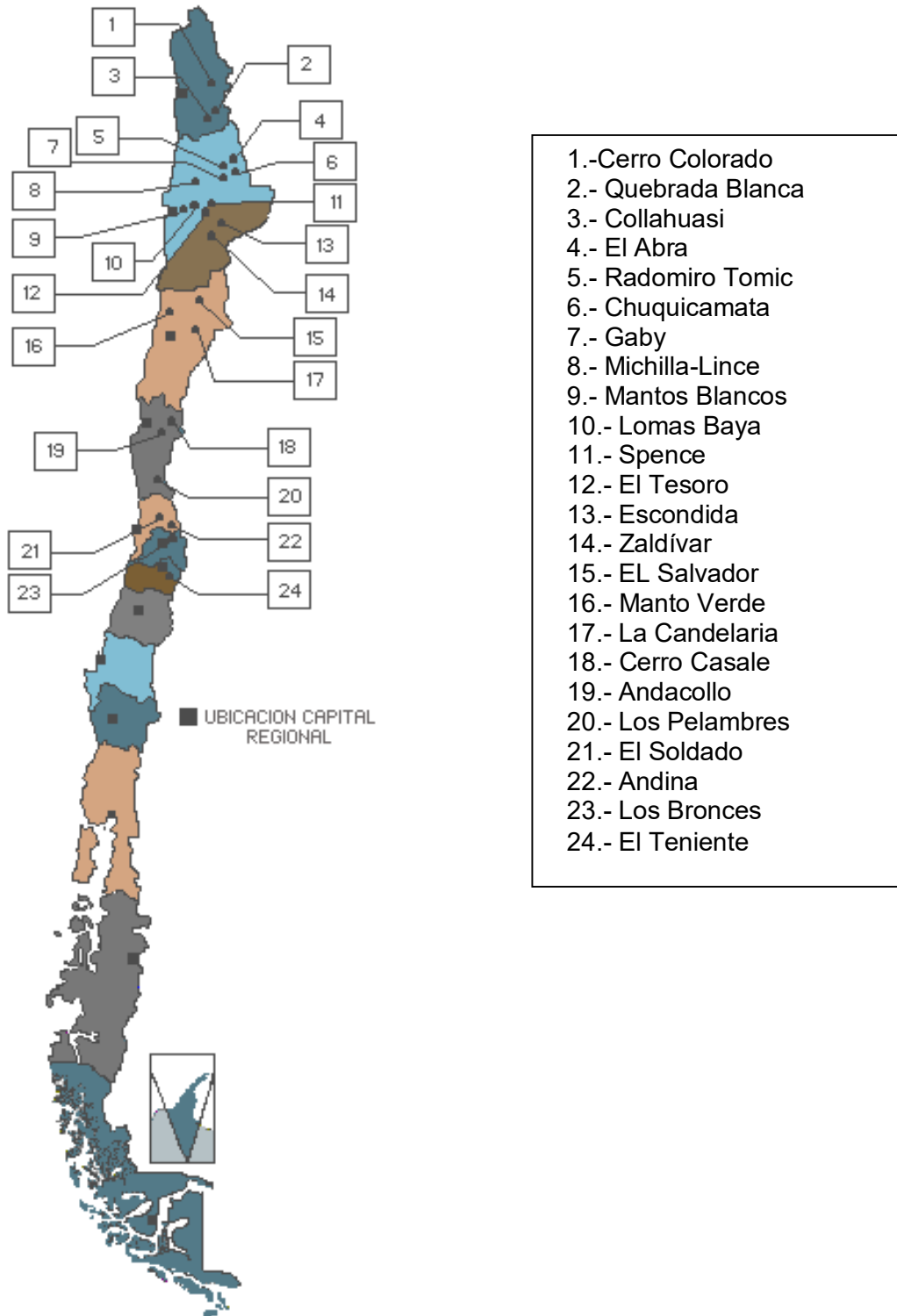
Fuente: Comisión Chilena del Cobre (COCHILCO, 2008)

Además, existen 7 fundiciones de cobre en el país que producen cobre fino (A II.- Tabla 2), siendo las más importantes Chuquicamata y Ventanas, ambas de propiedad de CODELCO. Tres de estas fundiciones actúan además como refinerías: Chuquicamata, Potrerillos y Ventanas.

**A II.- Tabla 2.-Ubicación y producción de las fundiciones de cobre en Chile**

<b>Región</b>	<b>Nombre</b>	<b>Producción (t/año)</b>
Región de Antofagasta	Altonorte	290.000
	Chuquicamata	500.000
Región de Atacama	Potrerillos	170.000
	Paipote	75.000
Región de Valparaíso	Ventanas	110.000
	Chagres	144.000
Región del Libertador Bernardo O'Higgins	Caletones	380.000

Fuente: Subsecretaría de Minería, 2002



**A II.- Figura 3. Ubicación geográfica de las grandes explotaciones mineras en Chile**

Fuente: Comisión Chilena del Cobre (COCHILCO), 2004

## 2. Relación minería-medio ambiente en Chile

Aun cuando la minería y las actividades relacionadas con ella han sido económicamente importantes para el país, generando, desde los tiempos de la

colonia, fuente de trabajo y la ocupación del territorio en el norte-centro del país, paralelamente ha tenido un efecto negativo en el medio ambiente, debido a la carencia de leyes de protección del medio ambiente, durante la mayor parte de la historia minera del país.

La minería es una de las actividades que genera mayor cantidad de desechos en Chile. Algunos datos señalan que, del total de mineral extraído en una mina metálica, sólo el 2% corresponde al metal deseado, mientras el resto es descartado como diferentes desechos: 50% estéril, 44% relaves y 4% escorias. Asimismo, existen innumerables otros impactos negativos asociados a la minería, debido a las actividades de explotación del mineral y su posterior tratamiento (López, et al., 2003).

En general, los principales impactos generados por la minería en Chile son:

- Uso de especies leñosas para reforzar túneles de minas subterráneas, así como la extracción de árboles en la mina a tajo abierto, lo que implica un proceso de deforestación y con ello el inicio de procesos erosivos (Movimiento Mundial por los Bosques Tropicales, 2004).
- Reducción de las napas freáticas debido al gran consumo de agua que demanda la actividad de extracción (Movimiento Mundial por los Bosques Tropicales, 2004).
- Disminución de la calidad del agua por evacuación o colapso de relaves que van a dar directamente a cursos de agua y al mar, dañando a la salud humana y a los ecosistemas. Un ejemplo de esto, es la contaminación en el río Cuncumén por la minera Los Pelambres, con molibdeno y sulfatos provenientes de relaves, debido a más de 10 incidentes (al 2010) ocurridos en los relaves de diferente magnitud (Ginocchio, 2008; Portilla, 2007).
- Drenajes ácidos de las minas (DAM) provenientes de estériles o escorias, cargados de metales pesados, que pueden alcanzar aguas superficiales o subterráneas, o terrenos agrícolas aledaños, causando el deterioro de su fertilidad (González, 2008; Vial, 1987).
- Erosión y sedimentación por las voladuras, molienda y remoción de vegetación para la extracción del mineral (González, 2008).
- Contaminación acústica, causada por las voladuras y maquinarias, que pueden afectar a poblaciones aledañas y generan el desequilibrio en la fauna circundante.
- Disminución de la calidad del aire por la liberación de contaminantes gaseosos a la atmósfera ( $\text{SO}_x$ - $\text{NO}_x$ ) y material particulado, rico en Cu, As y otros metales, por fundiciones. Hasta los 90', las fundiciones no tenían límites legales para emitir flujos residuales al ambiente; en consecuencia, la contaminación del aire y la generación de lluvia ácida<sup>62</sup> produjo y sigue produciendo (en menor proporción) daño en la salud humana (cáncer e intoxicaciones) y ha tenido efectos negativos en las actividades agropecuarias de las áreas cercanas a la fundición. Se considera que las fundiciones son las instalaciones mineras que provocan los mayores impactos ambientales (Ginocchio, R., 2008; Yupari, 2003).

El interés por el tema ambiental en la minería es solo de reciente aparición. De hecho, hasta comienzos del siglo XX, la gestión empresarial minera dependía solamente de las fluctuaciones de los precios del mercado. Asimismo, durante varias

---

<sup>62</sup> Al llover en un ambiente cargado de contaminantes y  $\text{SO}_2$  se genera una reacción que baja el pH del agua a valores ácidos (pH 3-5)

décadas del siglo XX las emisiones de contaminantes mineros fueron liberadas a su entorno sin ningún tipo de tratamiento. Sólo a mediados de los años 80, y bajo influencia de las tendencias mundiales, comenzó a crearse en el país conciencia de la responsabilidad medioambiental en la población y por otro lado conciencia de sustentabilidad y responsabilidad social corporativa en las empresas mineras. La tendencia mundial provocó que organismos gubernamentales internacionales empezaran a adoptar decisiones normativas basadas en supuestos efectos dañinos del cobre y otros metales sobre la salud humana y el medio ambiente. Tales regulaciones comenzaron a actuar como barreras no arancelarias para el cobre chileno en los mercados externos. Por otra parte, sectores productores de materiales competitivos con el cobre, comenzaron a hacer uso ocasional de estos supuestos efectos para posicionar mejor sus productos. La industria nacional del cobre, agrupada en la Asociación Internacional del Cobre, se encontró enfrentada a una situación que simplemente no sabía cómo manejar (Torres, 2005). Esto provocó, por un lado, que se comenzara a invertir capital empresarial en investigación científica para revelar los efectos de la contaminación minera en la salud humana y medio ambiente, investigación que se centró principalmente en universidades. Por otro lado, la ciudadanía empezó a emitir opiniones y a movilizarse a lo largo del país demandando soluciones. Por ejemplo, los trabajadores de la mina de Chuquicamata presentaron una demanda en contra de la compañía debido a la emisión de gases de la fundición; los dueños de predios en los valles de Puchuncaví y Catemu presentaron pleitos contra los dueños de las fundiciones vecinas de Ventanas y Chagres; igual hicieron los ciudadanos de Chañaral contra CODELCO debido a que los relaves de la planta de procesamiento de Salvador se habían depositado en las orillas de la bahía del mismo nombre, etc. (López, et al., 2003; Torres, 2005).

En los años 90', con la llegada masiva de capitales extranjeros al país, se produjo un incremento fuerte de la producción minera, a razón de un 7.6% anual (Figura 4). Lo positivo fue que las empresas extranjeras trajeron también sus nuevas tecnologías y su propia política ambiental, constituyéndose en "pioneras" de las medidas ambientales mineras, lo que despertó el interés del sector. Fue durante los 90' que se comenzó la discusión política sobre las posibles legislaciones ambientales mineras, con la participación de los diversos actores involucrados (López, et al., 2003; Yañez, 2005).

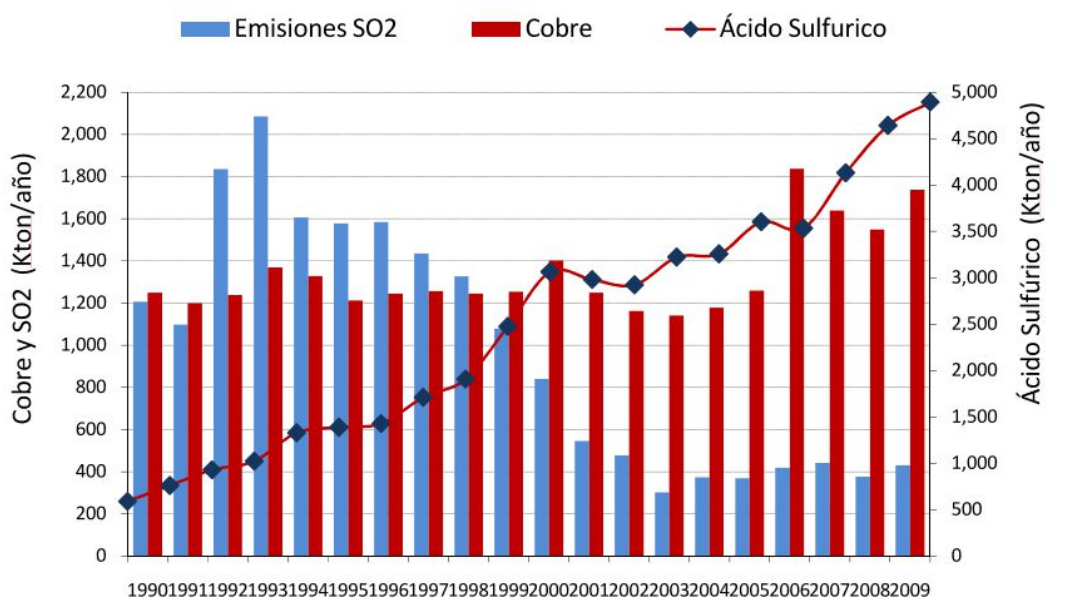
En 1994, se produjo finalmente la promulgación de la Ley de Bases del Medio Ambiente en Chile y otras disposiciones que contribuyeron a que las empresas con fundiciones (CODELCO y ENAMI) realizaran grandes inversiones en planes de descontaminación (Lagos, 2004; López, et al., 2003). En 1997 se creó el Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (SEIA), que regulaba la aprobación de los proyectos de inversión, dependiendo de su factibilidad ambiental; todo nuevo proyecto minero debió someterse al Sistema de Evaluación de Impacto Ambiental (Folchi, 2003).

Paralelamente, a partir de 1990 y hasta 1997, se impulsaron los planes de descontaminación en las cinco fundiciones del país, que hasta el día de hoy se han llevado a cabo con éxito (obedeciendo al Decreto N° 185 del Ministerio de Minería; Ministerio de Medio Ambiente, 2015). Las áreas circundantes a las fundiciones fueron declaradas saturadas de SO<sub>2</sub> y PM<sub>10</sub>, estableciéndose un cronograma de reducción de las emisiones hasta llegar en 1997 a cumplir con la normativa específica. Esto se acordó para permitir que los proyectos mineros ya existentes se ajustaran a las nuevas exigencias ambientales (Folchi, 2003). La primera Fundición en implementar un plan de descontaminación fue Ventanas (1992), a la que siguieron Chuquicamata (1993), Paipote (1995), Caletones (1998) y Potrerillo (1999) (Ministerio de Medio Ambiente, 2015).

Entre 1998 y el 2002 se promulgaron límites de emisión de arsénico (1999) y de calidad primaria de aire para SO<sub>2</sub> y material particulado, así como las normativas de emisión de descargas a aguas superficiales (2000) y subterráneas (2002), completándose así el marco normativo, al menos en sus principales componentes (Comisión Nacional del Medio Ambiente (CONAMA), 2008; Muñoz, 2007).

Otras disposiciones se han orientado a modernizar normativa obsoleta. En 2002 se modificó El D.S N°72 de seguridad minera, a través del D.S N°132, mejorándose la temática de la gestión ambiental, cierre de faenas y seguridad de los trabajadores. Asimismo en el 2006, el D.S N°248 derogó el antiguo reglamento (D.S N°86) para la aprobación de proyectos de diseño, construcción, operación y cierre de los depósitos de relaves, que existía desde 1970, actualizándose de forma a hacerlo más eficiente en términos ambientales y de seguridad (se actualiza la tecnología disponible) (Ministerio de Minería, 2002, 2006). El 2012 se creó la Ley de Cierre de Faenas e Instalaciones Mineras (Ministerio de Minería, 2011).

Como consecuencia de lo anterior, a lo largo de la década de los 90 y hasta la actualidad, se ha conseguido reducir significativamente la contaminación generada por la actividad minera, especialmente en relación a las emisiones atmosféricas (por ejemplo SO<sub>2</sub>, A II.- Figura 4).



**A II.- Figura 4. Producción de cobre (blíster+refinado) y emisiones de dióxido de azufre en el período 1993-2009 en Chile.**

Fuente: Ministerio de Medio Ambiente, 2011

Lamentablemente, aunque se tomaron medidas, y efectivamente la producción de contaminación por las mineras disminuyó significativamente desde los 90's, el daño a los ecosistemas ya estaba hecho, quedando un "pasivo ambiental minero" (PAM)<sup>63</sup> que recién hoy se está buscando solucionar. Este pasivo está formado por las toneladas de basura que ha dejado la extracción minera (relaves<sup>64</sup>,

<sup>63</sup> Un pasivo ambiental podría definirse como aquella situación ambiental que, generada por el hombre en el pasado y con deterioro progresivo en el tiempo, representa actualmente un riesgo al ambiente y la calidad de vida de las personas. Es una deuda ambiental que debe resolverse. Pasivos ambientales Mineros son aquellos sitios contaminados o con presencia de contaminantes (por emisiones o liberaciones de sustancias peligrosas), que no han sido objeto de remediación y que requieren de dicha intervención (previa evaluación de riesgos) para evitar la dispersión de contaminantes

<sup>64</sup> El 50% de los 665 relaves existentes en Chile están abandonados

pilas de escorias o estériles) y que están acumulados en la cordillera o en los valles del norte de Chile principalmente, además de las minas que están cerradas o abandonadas, sin ninguna medida de seguridad (407 actualmente) y también todos aquellos suelos cercanos a fundiciones que han quedado irreversiblemente alterados por la deposición de material particulado y SO<sub>2</sub>. De estos pasivos ambientales, el 90% corresponden a la minería del cobre (Yañez, 2005). Además, se han realizado varias conferencias donde se ha tratado el tema, involucrando a ministros y servicios dependientes, aunque aún no se ha tomado una decisión al respecto. En 2008, el Presidente de la Sociedad Nacional de Minería propuso que parte de los impuestos del Royalty<sup>65</sup> fueran usados para la remediación de los PAMs (Bravo, 2005; Rubilar, 2008).

La principal preocupación de las autoridades ante la temática de los PAMs es en primer lugar la imagen país ante los países desarrollados, con quienes hay relaciones comerciales, y luego, la situación de disconformidad de las comunidades involucradas que, día a día, presionan más para que se genere una solución (Bravo, 2005; Valencia, 2007).

Nadie tiene la responsabilidad legal de remediar estos pasivos ambientales, ya que no existía normativa cuando estos pasivos fueron generados. En el Ministerio de Minería se está elaborando un anteproyecto de norma para la remediación de pasivos; sin embargo, todavía no hay acuerdo en lo que respecta a la retroactividad de la norma ([www.senado.cl](http://www.senado.cl)). Además en el anteproyecto se establece la obligación de declarar los PAM ante CONAMA y elaborar planes de remediación, fiscalización y cumplimiento ante el SERNAGEOMIN (Valencia, 2007). En forma particular y como símbolo de buena gestión ambiental, CODELCO División Salvador firmó en Julio del 2008 un acuerdo con SERNAGEOMIN para evaluar y proponer alternativas de remediación para sus PAM (Planta Las Cascadas, incluyendo la zanja desde El Salvador a Llanta, y Depósitos de Relaves Los Amarillos) (Servicio Nacional de Geología y Minería (SERNAGEOMIN), 2008).

### 3.-Caracterización de la contaminación de suelos chilenos por cobre proveniente de la minería

La contaminación de suelos por cobre proveniente de la minería puede separarse en dos líneas. La contaminación puntual por depósitos de relaves y la contaminación difusa por efectos de las fundiciones de metal.

#### 3.1. Relaves

Existen en la actualidad 867 relaves en el país, 748 de ellos abandonados. La mayoría de los relaves se ubican en la IV región (A II.- Tabla 3). Muchos de ellos, por su incorrecta estabilización, han sufrido accidentes por licuefacción, inestabilidad de taludes, asentamientos diferenciales u agrietamientos de presas, los cuales han provocado muertes, pérdidas de viviendas, inundación de terrenos agrícolas, etc. (A II.- Tabla 4) (ECOAMERICA, 2007; Yupari, 2003).

---

<sup>65</sup> El royalty es el pago realizado por el uso de un recurso natural no renovable. Lo pagan solamente las empresas mineras particulares, desde el año 2005. El impuesto corresponde a un 5% de las ventas, a quienes excedan las 50 mil toneladas de venta de cobre. A quienes tengan una venta entre 12 y 50 mil se les aplica un impuesto escalonado desde 0,5 a 4,5%.

**A II.- Tabla 3. Número de relaves activos e inactivos, por región, en Chile**

Región	Cantidad		Total
	Activos	Pasivos	
Tarapacá	1	0	1
Antofagasta	10	51	61
Atacama	33	196	229
Coquimbo	53	395	448
Valparaíso	12	55	67
Metropolitana	7	36	43
B. O'Higgins	1	13	14
Del Maule	0	2	2
Aisén	2	0	2

Fuente: Cartagena, 2007

**A II.- Tabla 4. Relaves existentes en Chile, que han sufrido accidentes.**

Nombre relave	Ubicación	Propietario	Nº de accidentes
Los Pelambres	Comuna de Salamanca, sector Los Caimanes. IV Región.	Minera Los Pelambres. Grupo Luksic	1 (2007)
Tranque las Cenizas	Cabildo, V Región	Minera Las Cenizas S.A	-
El Indio	La Serena, IV región	Barrick	-
Relaves en Sewell	Machalí, VI región	Mina El Teniente, CODELCO	5 (1911-1916)
Barahona	Machalí, VI región	Mina El Teniente, CODELCO	1 (1928)
El Cobre	Papudo, V región	Mina "El Soldado", Disputada Las Condes	1 (1965)
La Cocinera	Ovalle, IV región	Mina Panulcillo	1 (1997)
El Salvador	III Región	CODELCO	-
Tranque El Palomar	Copiapó, III región	EMELAT S.A	2003
Cerro Negro 3	La Ligua, V región	Compañía Minera Cerro Negro	1965
Cerro Negro 5	La Ligua, V región	Compañía Minera Cerro Negro	2003

Fuente: Espinace & Villavicencio, 2004; Folchi, 2003; SERNAGEOMIN & Instituto Federal de Geociencia y Recursos Naturales, 2008

Por otro lado, los relaves tienen un impacto negativo sobre el paisaje, rompiendo su continuidad; el área sobre la que se depositan queda inhabilitada y hay riesgo de lixiviación si el suelo no se impermeabiliza. Las concentraciones de cobre en un relave pueden ir desde 570 a 5500 mg/kg. La erosión eólica provoca que las partículas de contaminantes se dispersen más allá de la pila de material, provocando un gradiente de concentración superficial de varios kilómetros que deteriora el paisaje (Higuera et al., 2004).



### 3.2. Suelos

La investigación acerca de la contaminación de los suelos chilenos por cobre derivado de actividades mineras ha tenido un importante desarrollo en los últimos años, evidenciándose sus causas y efectos sobre los ecosistemas asociados (Ávila, et al., 2007; Ginocchio, 2000; Ginocchio, et al., 2002; Sánchez & Enríquez, 1996). Sin embargo, poco se ha hecho para caracterizar la contaminación real existente a lo largo del país.

El estudio más reciente de presencia de metales en suelos (incluyendo al cobre) a nivel nacional, es el realizado por el INIA, entre 1981 y 1990. El INIA desarrolló un estudio prospectivo del contenido de metales entre el río Huasco (III región) y Simpson (XI región). Los contenidos totales de Cu fueron altos en las regiones centrales, y se diluían hacia el Sur del país, haciéndose indetectables hacia el extremo sur (A II.-Tabla 5) El estudio concluyó que, independiente de las altas concentraciones de fondo existentes en Chile, la zona central presentaba contaminación por cobre, ya que las fluctuaciones entre los mínimos y máximos de cobre en el suelo son mucho mayores que las fluctuaciones naturales en los suelos de la zona sur (INIA, 1990).

**A II.- Tabla 5. Contenidos promedio de cobre en suelos de distintas regiones de Chile**

	<b>Región</b>	<b>Promedio mg/kg</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>	<b>Nº observaciones</b>
Huasco	III	31	13	53	29
Elqui	IV	87	14	160	21
Limarí	IV	65	36	100	18
Ligua	V	72	16	274	34
Aconcagua	V	128	33	1733	67
Puchuncaví	V	543	52	3833	40
Mapocho	RM	197	42	856	40
Maipo	RM	72	7,5	243	19
Cachapoal	VI	427	39	1180	52
Tinguiririca	VI	54	14	245	18
Mataquito	VII	38	16	61	10
Maule	VII	28	15	65	40
Bío Bío	XIX	31	6,3	63	42
	X y XI	Inferior al límite de detección			

Fuente: Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), 1990

El resto de las investigaciones se han centrado en cuantificar la contaminación en los sitios cercanos a fuentes de contaminación minera con miras a evaluar los efectos sobre algún o algunos elementos de los ecosistemas afectados por dicha contaminación (A II.- Tabla 6). Asimismo, mediciones en ríos, en los puntos de descarga de sedimentos mineros también reportan altos valores (sobre límite para agua potable de 1 mg/L y sobre norma de agua para regadío de 0,4 mg/L, Instituto Nacional de Normalización, 1978, 1984). Muchas investigaciones estudian también los valores de cobre cercanos a las vetas mineras propiamente tal. Sin embargo, se debe aclarar que, en este caso, los altos valores de cobre no son producto de contaminación minera sino que son los valores de fondo causados por el pórfido cuprífero (por ejemplo 100 mg/kg a 5 km de mina El Colorado, De Gregori et al., 2003).

**A II.- Tabla 6. Síntesis de los resultados de investigaciones sobre contaminación de suelos por cobre en áreas cercanas a puntos de contaminación minera en Chile.**

Región	Mina o Fundición cercana	Distancia a la fuente de contaminación	Concentración de Cu	Fuente
III	El Salvador	Punto de descarga de sedimentos. Caleta "El Palito"	7.2–985 mg kg <sup>-1</sup>	(Ramírez et al., 2005).
II	La Escondida	20 Km. Agua que recibe descargas mineras	500 mg/L (Cu soluble)	(Flynn et al., 2002)
II	Chuquicamata (mina y fundición)	35 Km. Chiu Chiu, en el Valle del Loa	108 mg/kg	(De Gregori, Ida, et al., 2003)
V	Fundición Ventanas	2 Km. Localidad de La Greda	530 mg/kg	(De Gregori, Ida, et al., 2003)
V	Fundición Ventanas	8 km. Ciudad de Puchuncaví	143 mg/kg	(De Gregori, I. et al., 2000)
V	Fundición Chagres	4 km. Valle de Catemu	140 mg/kg	(De Gregori, Ida, et al., 2003)
V	Fundición Chagres	5.5 km. Poblado de San José	179 mg/kg	(De Gregori, Ida, et al., 2003)
V	Fundición Chagres	7 Km Santa Margarita	183 mg/kg	(De Gregori, I., et al., 2000)
IV	Andacollo	No indica. Andacollo. Sedimento de río	75-2200 mg/kg	(Higuera, et al., 2004)
VI	Fundición Caletones	Sedimento del río Coya, al SO de la Fundición	4555 mg/kg	(Richtera et al., 2004)
VI	Fundición Caletones	Sedimento del río Cachapoal al S de la Fundición	750-2000 mg/kg	(Richtera, et al., 2004)
VI	Fundición Caletones	No indica. Cercanías de la Fundición	139-947	(Ahumada et al., 2004)
IV	Relaves en La Cocina	0,3 a 2,5 Km del relave	26-120 (Cu DTPA) <sup>66</sup>	(Montenegro et al., 2009)

Fuente: elaboración propia en base a fuentes citadas

#### 4. Efectos de la contaminación de suelos chilenos por cobre proveniente de la minería

En realidad, se hace difícil remontarse a la situación pre-minería en Chile para poder evaluar los efectos de esta actividad, ya que la minería en el país se remonta

<sup>66</sup> No se midió Cu total

a la época colonial. Los histógrafos o historiadores ambientales solamente han encontrado leves sugerencias en escritos, donde se menciona el cambio en el paisaje del país, específicamente en la zona norte y centro, cuando comenzó el fuerte desarrollo minero.

A pesar de ello, actualmente se pueden verificar, gracias a archivos históricos, varios hechos significativos. Por ejemplo, se puede constatar, en muchas áreas mineras, la ausencia de formaciones vegetacionales en distintos puntos. También se puede comprobar el impacto de la minería en la disminución sostenida de la disponibilidad de combustible (leña), lo cual evidenciaría, finalmente, el empobrecimiento progresivo de la cubierta vegetal de la región a causa de dicha actividad. Por ejemplo:

- a) En el valle de Catemu, los minerales de la mina *Los Mantos*, que tenía una ley de cobre modesta para la época (9%) eran conducidos al establecimiento de los Ángeles donde no hubiera sido rentable fundirlos «si no hubiera en los alrededores leña en abundancia». Quince años más tarde, en 1856, el científico Amado Pissis haciendo una descripción de la provincia de Aconcagua sostenía que en los Departamentos de Los Andes, San Felipe y Putaendo, la zona más oriental y más elevada de la región, la disponibilidad de combustible ya se estaba haciendo poca (Folchi, 2001).
- b) Camus (2004) realiza una recopilación de datos históricos, integrándolo a deducciones en base a datos climáticos, para caracterizar la vegetación de la zona denominada Norte Chico (regiones de Atacama y Coquimbo), en el siglo XVIII, y determinar si la actividad minera fue la causante de la deforestación de esta zona. El autor deduce en base a los archivos históricos que, ya en esa época, se apreciaba una vegetación poco densa, con los cerros casi desnudos y con mayor cantidad de vegetación xerófila en las quebradas y valles, estando estas últimas, mayormente despejadas para la agricultura. Aun así, el historiador Benjamín Vicuña Mackenna indica en sus archivos que el auge minero en la zona, a principios del siglo XIX, arrasó con la vegetación existente, ya que se necesitaba mucha madera para los hornos de reverbero. Esta situación fue también narrada por el naturalista Claudio Gay en sus notas en el periódico “El Araucano”. A mediados del siglo XIX, luego del agotamiento de la vegetación leñosa, se reemplazó la madera por el carbón
- c) Finalmente, está registrado que varios miembros de la intelectualidad chilena del siglo XIX advirtieron del fenómeno de la degradación ambiental, lo denunciaron y trataron de impulsar medidas para contenerlo; en 1838, el científico francés Claudio Gay levantó la primera voz de alarma pública respecto de los daños que la industria minera estaba ocasionando en la cubierta vegetal de la región minera, al publicar en *El Araucano*, periódico oficial del gobierno, una memoria científica dirigida al Ministerio del Interior. A juicio de este botánico (comisionado por el gobierno para estudiar las potencialidades económicas del territorio nacional) era evidente que los montes estaban siendo devastados por los leñadores que trabajaban para las fundiciones, lo cual tenía como consecuencia más grave, a su juicio, el cambio del estado atmosférico de la región, con lo cual se perjudicaría el desarrollo de las actividades agrícolas en el futuro. Sus recomendaciones no tuvieron eco en el gobierno (Folchi, 2001). De la misma forma, Benjamín Vicuña Mackenna publicó un pequeño libro titulado *Estudios sobre la Agricultura* como producto de sus observaciones y estudios sobre la agricultura europea; en el texto hacía pública su preocupación por la situación de los bosques en Chile, donde «la ruda hacha del leñador ha arrasado aquellos completamente en algunos

lugares, como en la Hacienda el Melón. A su juicio, Chile era candidato convertirse, en un plazo no superior a cincuenta años, en «un país de desnudas colinas» (Folchi, 2001).

A pesar de las evidencias existentes, reconstruir con exactitud cuál era el paisaje original de las actuales zonas minera, calcular la biomasa total de los distintos tipos forestales que alguna vez existieron, determinar el funcionamiento primitivo de los diversos ecosistemas de la región, para luego cuantificar con precisión el ritmo e intensidad del impacto que tuvo la actividad minera sobre él, es una tarea que aún no se lleva a cabo, y que requeriría de los afanes concertados de distintos especialistas y de la utilización de metodologías complejas (Folchi, 2001).

A pequeña escala se han podido realizar investigaciones específicas, comparando características ecosistémicas en áreas mineras v/s áreas prístinas aledañas de similares características paisajísticas o, en condiciones controladas, aislando organismos y sometiénolos a contaminación artificial.

A continuación se sistematiza la información de investigaciones referidas a los efectos en comunidades marinas, salud humana, vegetación y fauna en el país, derivados de la contaminación por cobre en el suelo.

#### 4.1. Comunidades marinas

Aunque no se relaciona directamente con la contaminación de suelos, la contaminación marina suele provenir de sedimentos provenientes de la minería, que se depositan en los bordes de ríos o litorales. La mayoría de las investigaciones que se han realizado evalúan los efectos de la minería sobre comunidades marinas en el norte de Chile.

- De las más antiguas, Castilla y Nealler (1978) evidencian cómo el depósito de aproximadamente 25.000 toneladas diarias de sedimentos no tratados, provenientes de la mina “El Salvador” en las costas de la III Región (Chañaral), inhibieron el crecimiento de los organismos marinos, disminuyendo drásticamente el número de especies, debido a la falta de luz y las altas concentraciones de metales pesados.
- Otro estudio, realizado 20 años más tarde, por el mismo autor, en el mismo lugar (Castilla, 1996), demostró que todas las especies de invertebrados habían desaparecido y las rocas estaban cubiertas casi en su totalidad por eel alga *Enteromorpha compressa*, la cual, por su persistencia se propone como una especie tolerante a la contaminación.
- Lee y Correa (2005) analizaron en la misma zona de Chañaral los efectos de los depósitos sobre la meiofauna<sup>67</sup>, evidenciándose una disminución en la densidad de individuos y en la diversidad. En otro estudio relacionado, realizado por Fariña *et al.* (2000), se evaluó la composición dietaria del pez omnívoro *Girella laevis* en aguas cercanas a las minas El Salvador y Punta Grande, en la II y III regiones. Se concluyó que existían fuertes variaciones en la composición de la dieta de *G. laevis* entre sitios contaminados y no contaminados, debido a la escasez de algunas especies de las cuales se alimenta el pez. En la misma línea de estos estudios existen varios otros, que evidencian resultados similares (Correa *et al.*, 1999; Correa *et al.*, 2000; Vásquez *et al.*, 2000).

---

<sup>67</sup> Pequeños invertebrados que habitan entre los granos de arena y en los fangos

#### 4.2. Organismos del suelo

En relación a los efectos sobre los organismos del suelo, hay muy poca información; Ávila *et al.* (2007) evaluaron la toxicidad por cobre y arsénico en el organismo indicador *Eisenia foetida* (lombriz de tierra), utilizando una serie de suelos contaminados por actividad minera de la V región, ya sea fundiciones o relaves (Los Andes, San Felipe, Chagres, Catemu y El Melón), con concentraciones de cobre totales que iban desde 82 a 1570 mg kg<sup>-1</sup>. Se concluyó que en forma proporcional a las concentraciones de contaminantes, éstos eran tóxicos para el desarrollo y reproducción de la microfauna edáfica.

#### 4.3. Vegetación

En áreas de influencia de las Fundiciones Chagres y Ventanas (comunas de Catemu y Puchuncaví, respectivamente), la concentración de cobre en cultivos de alfalfa fue alta, en comparación con un valle no contaminado (Casablanca) (A II.- Tabla 7), lo que indica que existe contaminación de las hortalizas, que pueden ser consumidas por ganado, incorporándose a la cadena trófica (De Gregori *et al.*, 2000).

**A II.- Tabla 7. Concentración de cobre en alfalfa, muestreada en las cercanías de las fundiciones Chagres y Ventanas, V región, en comparación con alfalfa de sector control.**

Comuna	Sector	Fundición	Distancia a la fundición (km)	Concentración de Cu en suelo (mg/kg)	Concentración de Cu en alfalfa (mg/kg)
Puchuncaví	La Greda	Ventanas	2	443 ± 24	60 ± 2
Puchuncaví	Los Maitenes	Ventanas	2,6	382 ± 10	56 ± 3
Catemu	Catemu	Chagres	4	113 ± 3	24 ± 0,7
Catemu	Sta. Margarita	Chagres	7	183 ± 3	82 ± 4
Casablanca	Casablanca	Sector control		27 ± 4	9,3 ± 0,4

Fuente: De Gregori *et al.*, 2000.

Ginocchio *et al.*, reportaron los efectos de la fundición Ventanas (comuna de Puchuncaví) sobre la comunidad vegetal aledaña (Ginocchio, Rosana, 2000). Esta investigación se detalla en el Capítulo III, por corresponder al área de estudio de la investigación.

#### 4.4. Salud humana y animal

Prácticamente no existen datos publicados de efectos de contaminación por cobre en suelos chilenos sobre la salud humana o animales expuestos a contaminación. Las investigaciones se limitan a ensayos controlados en laboratorio, a excepción de un estudio realizado en el área de Ventanas, que será discutido en el próximo capítulo (Sánchez. *et al.*, 1999). También existen algunas investigaciones orientadas a analizar el efecto de la contaminación de aguas contaminadas por minería en la salud humana (Araya, *et al.*, 2005).

## 5. El daño histórico causado por la actividad minera en Chile

La meta del desarrollo económico no permitió, en un principio, evaluar los impactos ambientales que esta actividad produciría en gran parte del país. Hoy el país se enfrenta a los efectos que ha causado históricamente la minería sobre el paisaje original y los ecosistemas, la realidad de un gran número de relaves, estériles y escorias abandonados y en riesgo, así como grandes áreas de terreno afectadas por las emisiones de las fundiciones. Lo que queda ahora por hacer es buscar alternativas para remediar en la mayor proporción posible el daño causado, lo que debe lograrse mediante una efectiva interacción de la comunidad científica, las empresas mineras y las autoridades políticas.



**ANEXO III**  
**VARIOS**





**Tabla 1: Empresas de remediación de suelos contaminados con metales en el mundo.**

<b>Nombre</b>	<b>País</b>	<b>Técnicas aplicadas para metales</b>	<b>Sitio web</b>
ADVENTUS	USA	Estabilización química, barreras permeables	<a href="http://www.environmental-expert.com/STSE_resultteach.aspx?cid=8969&amp;idprofile=2787&amp;section=0">http://www.environmental-expert.com/STSE_resultteach.aspx?cid=8969&amp;idprofile=2787&amp;section=0</a>
Dowa Eco-System Co. Ltd.	Japón	Barreras permeables, biorremediación, desorción térmica, lavado de suelos	<a href="http://www.dowa-eco.co.jp/en/soil.html">http://www.dowa-eco.co.jp/en/soil.html</a>
BioPlanta	Alemania	Fitorremediación	<a href="http://www.bioplanta-leipzig.de/es_index.html">http://www.bioplanta-leipzig.de/es_index.html</a>
Biosoil	Netherlands	Contención y aislamiento	<a href="http://www.biosoil.com/site/">http://www.biosoil.com/site/</a>
Eadha	Escocia, UK	Desarrolla proyectos de revegetación de suelos degradados, educación ambiental y fitorremediación con árboles nativos	<a href="http://www.eadha.co.uk/services/landreclamation">http://www.eadha.co.uk/services/landreclamation</a>
Ecolotree	USA	Fitorremediación mediante árboles	<a href="http://www.ecolotree.com">www.ecolotree.com</a>
EdenSpace	USA	Fitoextracción de arsénico, plomo, uranio, cromo, y otros metales, metaloides y orgánicos	<a href="http://www.edenspace.com">http://www.edenspace.com</a>
AECOM	Multinacional (Asia, Europa, Latinoamérica, Norteamérica, Australia)	Enjuague y lavado de suelos, vitrificación, solidificación	<a href="http://www.aecom.com/What+We+Do/Environment/Practice+Areas/Remediation+Services+and+Site+Restoration">http://www.aecom.com/What+We+Do/Environment/Practice+Areas/Remediation+Services+and+Site+Restoration</a>
Envirotech	Reino Unido	Barreras (permeables e impermeables), estabilización, lavado de suelos, vitrificación	<a href="http://www.mbeltd.co.uk/other_technologies.htm">http://www.mbeltd.co.uk/other_technologies.htm</a>
Grand Slam Enterprise	USA	Extracción con vapor, excavación construcción de	<a href="http://www.grandslamenterprises.com/remedia">http://www.grandslamenterprises.com/remedia</a>

		barreras, oxidación in situ (biorremediación)	tion.htm
Horizontal Subsurface Systems Inc.	USA	Barreras	<a href="http://www.horizontal.com">http://www.horizontal.com</a>
PhytoTech	USA	Fitorremediación	<a href="http://www.cluin.org/products/site/ongoing/demoong/phytotec.htm">http://www.cluin.org/products/site/ongoing/demoong/phytotec.htm</a>
PLANTEC	USA	Fitorremediación	<a href="http://www.planteco.com">http://www.planteco.com</a>
RECON	USA	Fitorremediación, biorremediación, excavación y aislamiento, barreras, solidificación	<a href="http://www.reconnet.com">http://www.reconnet.com</a>
SOILUTIONS	UNITED KINGDOM	Fitorremediación Excavación Remediación química Lavado de suelo Estabilización	<a href="http://www.soilutions.co.uk/contact-us/">http://www.soilutions.co.uk/contact-us/</a>
Tea Inc.	Baton Rouge, Luisiana, USA	Excavación Bioventilación Biorremediación Fitorremediación Aplicación de enmiendas Lavado de suelos (Entre otros servicios como evaluación de riesgo, análisis de matrices ambientales, planes de cambio de uso de suelo, etc.)	<a href="http://www.teainconline.com/services/remediation/soil-remediation/">http://www.teainconline.com/services/remediation/soil-remediation/</a>

Fuentes: BioSoil, 2008; DOWA ECO-SYSTEM Co. Ltda., 2008; EdenSpace Systems Corporation, 2008; ENSR, 2008; Envirotech, 2008; Bioplanta GmbH, 2007; Horizontal Subsurface Systems Inc. (HSSI), 2008; PhytoTech, 2008; PLANTECO Environmental Consultants, 2008; Remedial Construction Services (RECON), 2008; The Reynold Group, 2009

**Tabla 2. Evolución de emisiones de AES GENER S.A. y CODELCO División Ventanas a partir de la implementación de monitoreo de emisiones en 1993**

Año	Material Particulado		Anhídrido Sulfuros (SO <sub>2</sub> )		Emisión Total	
	GENER Ton/año	CODELCO Ton/año	GENER(1) Ton/año	CODELCO Ton/año	Material Particulado Ton/año	SO <sub>2</sub> Ton/año
<b>1993</b>	-	-	-	117.298,00	-	-
<b>1994</b>	23.404	3.301	-	123.052,00	26.705	-
<b>1995</b>	8.330	2.746	-	118.436,00	11.076	-
<b>1996</b>	542	3.328	8.951	117.322,00	3.870	126.273
<b>1997</b>	464	1.616	10.020	85.378,00	2.080	95.398
<b>1998</b>	1.183	1.231	9.224	44.808,00	2.414	54.032
<b>1999</b>	1.277	305	10.529	30.732,00	1.582	41.261
<b>2000</b>	1.242	125	8.229	30.220,00	1.367	38.449
<b>2001</b>	685	127	2.767	31.910,00	812	34.677
<b>2002</b>	144	55	538	30.882,00	199	31.420
<b>2003</b>	425	92	2.774	24.352,00	517	27.126
<b>2004</b>	1.016	202	9.498	22.534,00	1.218	32.032
<b>2005</b>	606	414	5.869	31.496,00	1.020	37.365
<b>2006</b>	336	332	8.309	27.454,00	668	35.763

Fuente: Ministerio de Salud et al., 2007

