

**Efecto del tiempo post extracción aurífera
sobre características químicas y biológicas de
sedimentos residuales para revegetación**

Josselyn Karina Viturco Guamán

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2019

ZAMORANO
CARRERA DE AMBIENTE Y DESARROLLO

Efecto del tiempo post extracción aurífera sobre características químicas y biológicas de sedimentos residuales para revegetación

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Ambiente y Desarrollo en el
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Josselyn Karina Viturco Guamán

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2019

Efecto del tiempo post extracción aurífera sobre características químicas y biológicas de sedimentos residuales para revegetación

Josselyn Karina Viturco Guamán

Resumen. La minería a cielo abierto genera impactos ambientales por la degradación del suelo y la cantidad de sedimentos remanentes de la extracción, que obligan a las empresas mineras a rehabilitar estos espacios. Los objetivos del estudio fueron, evaluar el efecto del tiempo post extracción aurífera a cielo abierto de los sedimentos a uno, dos y cuatro años en la adaptación vegetal, establecer indicadores para monitorear la revegetación sobre estos sedimentos y evaluar uso de bioestimulantes (micorrizas y *Trichoderma*) con leguminosa (*Canavalia ensiformis*) y gramínea (*Brachiaria brizantha*). El ensayo se realizó en un macrotunel, en parcelas subdivididas con bloques completamente al azar (BCA) y el análisis estadístico fue un ANDEVA factorial en LSD de Fisher. Se midieron variables de crecimiento de las plantas de cada especie semanalmente, hasta los 45 días de siembra y desarrollo radical. El tiempo de descanso de los sedimentos influye en sus condiciones químicas y biológicas. En dos años de descanso la calidad del material fue más limitada. En cuatro años se generan condiciones más favorables. La condición química y biológica de los sedimentos en los dos primeros años limitó el crecimiento de los cultivos, aun así, canavalia se adaptó mejor que *B. brizantha* al material de un año. La simbiosis entre *Brachiaria* y micorrizas favorece el desarrollo de la planta en todos los sedimentos. Cultivos con micorriza favorecen rehabilitación de los sedimentos mineros. Los indicadores más representativos fueron el pH, la conductividad eléctrica, la materia orgánica, la relación carbono nitrógeno (C/N) y la densidad microbiana en los sedimentos.

Palabras clave: Bioestimulantes, minería, rehabilitación.

Abstract. Open pit mining generates environmental impact due to the degradation of the soil and the amount of sediments remaining from the extraction, which demand mining companies to rehabilitate these spaces. The objectives of this study were: to evaluate the effect of time post exposure auriferous open pit of sediments at one, two and four years to the plant adaptation, to establish indicators to monitor the revegetation on these sediments, and to evaluate the use of biostimulants (mycorrhizae and *Trichoderma*) with legume (*Canavalia ensiformis*) and grass (*Brachiaria brizantha*). The trial was developed in macrotunel, in subdivided plots with RCB and the statistical analysis was a factorial ANOVA with Fisher's LSD. Growth variables of the plants of each species were measured at 45 days after seeding. The reposing time of the sediments influences their chemical and biological conditions. In two years of repose, the quality of the material is more limited. In four years, more favorable conditions were generated. The chemical and biological conditions of the sediments in the first two years, limited the crop growth, even so, the canavalia adapted better at one-year-old material. Symbiosis between *B. brizantha* and mycorrhizae improvement growth crop in all kind of sediments. Crops with mycorrhiza improvement the rehabilitation of mining sediments. The most representative indicators were pH, electrical conductivity, organic matter, chemical carbon ratio (C/N) and microbial density in the sediments.

Key words: Biostimulants, mining, rehabilitation.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas	ii
Resumen	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexo	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. METODOLOGÍA	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES.....	20
5. RECOMENDACIONES.....	21
6. LITERATURA CITADA	22
7. ANEXO.....	26

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXO

Cuadros	Página
1. Descripción de tratamientos utilizados en la evaluación de la revegetación de sedimentos de extracción aurífera de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras.....	7
2. Condición química inicial de los sedimentos colectados, generados por explotación aurífera en la mina Clavo Rico, El Corpus, Choluteca, Honduras.	9
3. Condición química del material generado por explotación aurífera posterior a revegetación con <i>Canavalia</i> y <i>Brachiaria</i> en el macro túnel dos del PIF, EAP Zamorano.....	10
4. Evaluación de las variables altura, número de hojas, biomasa seca, longitud, área superficial y diámetro de raíz de <i>Canavalia ensiformis</i> a los 45 días después de emergencia, de los sedimentos residuales de la explotación aurífera de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras.....	12
5. Efecto del tiempo post extracción aurífera en sedimentos de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras en <i>Canavalia ensiformis</i> a los 45 días después de emergencia.....	14
6. Evaluación de las variables altura, número de hojas, biomasa seca, longitud, área superficial y diámetro de la raíz de <i>Brachiaria brizantha</i> a los 45 días después de siembra, en los sedimentos residuales de la explotación aurífera de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras.	15
7. Efecto del tiempo post extracción aurífera en sedimentos residuales de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras en el cultivo de <i>Brachiaria brizantha</i> a los 45 días después de siembra.....	18
8. Efecto del uso de inóculos como bioestimulantes en la revegetación con <i>Brachiaria brizantha</i> a los 45 días después de siembra.	19
9. Efecto del tiempo post extracción aurífera de sedimentos residuales y el uso de inóculos como bioestimulantes en la evaluación de revegetación con <i>Brachiaria brizantha</i>	19
Figuras	Página
1. Ubicación de la Mina Clavo Rico	3
2. Puntos de recolección de material en la mina Clavo Rico	4
3. Densidad microbiana de los sedimentos residuales de uno, dos y cuatro años de la mina Clavo Rico, El Corpus, Choluteca, Honduras.	11
4. Efecto del tiempo post extracción aurífera en sedimentos residuales de la mina Clavo Rico en la altura semanal de <i>Canavalia ensiformis</i>	13

5. Efecto del tiempo post extracción aurífera en sedimentos residuales de la mina Clavo Rico en la altura semanal de <i>Brachiaria brizantha</i>	15
6. Efecto del uso de inóculos como bioestimulantes sobre la altura semanal de <i>Brachiaria brizantha</i>	16

Anexo	Página
1. Protocolo del laboratorio de Fitopatología de la EAP Zamorano utilizado para determinar el estimado de hongos y bacterias en los sedimentos utilizados.....	26

1. INTRODUCCIÓN

Los terrenos contaminados ya sea por minería u otra actividad antropogénica presentan un riesgo potencial de toxicidad no tolerable para la salud humana o el ambiente debido al contenido o de algún elemento tóxico, como consecuencia de una actividad humana actual o pasada (Porta, López, & Poch, 2014). Por lo tanto, cualquier impacto en la pedósfera influirá también en la biósfera, ya que están íntimamente relacionadas, afectando su salud en general (Van Bruggen, 2000).

La minería aurífera a cielo abierto es aquella en donde se remueve la capa superficial para acceder a los yacimientos del mineral. Posteriormente, se tritura y se retira el mineral mediante riego con solución de cianuro. El material residual es rico en iones de cianuro y otras sustancias tóxicas, que finalmente puede filtrarse en el ambiente (Adler et al., 2013; Razanamahandry et al., 2018). Este proceso induce cambios en el uso del suelo y paisajes naturales, inestabilidad en los terrenos y reduce la biodiversidad. Además, genera grandes cantidades de desechos conocidos como «relaves o colas», los cuales tienen altas concentraciones de contaminantes en especial metales pesados como Cu, Pb, Cd, entre otros y reactivos usados durante la lixiviación (Espín, Jarrín, & Escobar; 2017, Li, Z., Ma, Z., van der Kuijp, T. J., Yuan, Z., & Huang, L., 2014). Las condiciones de los relaves resultan en una meteorización acelerada del material, lo que posteriormente dará lugar a suelos con propiedades distintas a las originales debido a que estos no poseen cobertura vegetal y su comunidad microbiana es reducida y estresada (Moynahan, O. S., Zabinski, C. A., & Gannon, J. E., 2002; Paradelo, 2013).

Los sedimentos de los relaves son susceptibles a compactarse e incluso cementarse formando una barrera impenetrable de la superficie. Al contrario, si no se compactan son susceptibles a erosión hídrica y eólica (Bradshaw, A.D. & Johnson, M.S, 1992). Los factores biológicos se deben tener en cuenta ya que son componentes integrales en el funcionamiento de todos los ecosistemas. Su reducción en los sedimentos mineros resulta en un ciclo de carbono y de nutrientes lento (Tordoff, G. M., Baker, A. J. M., & Willis, A. J., 2000). Por tanto, es necesario buscar una alternativa para recuperar el equilibrio de los sedimentos alterados.

Mediante la revegetación se pueden estabilizar residuos de la mina y alcanzar una rehabilitación a largo plazo. Esta es una alternativa atractivamente visual y relativamente económica. La cubierta vegetal proporciona estabilidad superficial pues evita la dispersión de partículas con el viento, ya que las raíces se unen al sustrato. Además, reduce la movilidad de contaminantes solubles en fuentes superficiales o subterráneas de agua (Tordoff et al., 2000).

La revegetación es deseable, sin embargo, un relave es un entorno que presenta factores limitantes del crecimiento para las plantas por sus niveles de elementos tóxicos, deficiencia de macronutrientes y estructura deficiente. Por esto, se han realizado experimentos en terrenos mineros para formular esquemas de revegetación a gran escala. Su aplicación es limitada por la variabilidad en factores físicos, químicos y biológicos de una mina a otra. Aquellos que se han logrado establecer exitosamente han sido precedidos por estudios analíticos y ensayos en macetas en invernadero a pequeña escala (Williamson & Johnson, 1981).

Resulta necesario tener indicadores confiables para la evaluación y monitoreo del proceso de revegetación y estabilización de los sedimentos. Comúnmente se utilizan parámetros fisicoquímicos como el pH, la conductividad eléctrica del suelo, el contenido de materia orgánica y la textura (Razanamahandry et al., 2018). Sin embargo, los indicadores biológicos son aquellos que están ligados con la salud del suelo y son aquellos relacionados con la biomasa, actividad y biodiversidad de las comunidades de microorganismos, ya que son responsables del 70 al 85% de la actividad biológica del suelo (Garbisu, C., Becerril, J. M., Epelde, L., & Alkorta, L., 2007; Paz-Ferreiro, 2016).

La importancia de este estudio radica en evaluar la revegetación utilizando dos cultivos diferentes para la rehabilitación de sedimentos de áreas perturbadas. De esta manera, estos podrán ser utilizados posteriormente, ya sea de orden pasivo o productivo. Además, con este estudio se pretende generar un marco de referencia para futuras investigaciones. Se espera que los resultados de esta investigación beneficien a empresas mineras en el cumplimiento del reglamento ligado a los aspectos ambientales y también, se generen alternativas para la recuperación de los suelos afectados por la minería a cielo abierto.

Por su parte Honduras se basa en el Acuerdo Ejecutivo Número 001-2017, que en su Artículo 3, afirma que: “Todo Titular de actividad minera está obligado a realizar el cierre de las áreas, labores e instalaciones de una unidad minera, a través del Plan de Cierre de Minas. Dicho plan se deberá presentar para la Etapa de Exploración dentro un Plan de Manejo Ambiental” (SERNA, 2017).

En este estudio se propuso evaluar parámetros químicos y biológicos de sedimentos contaminados por minería a cielo abierto con lixiviación de cianuro, utilizando diferentes organismos, entre ellos un hongo antagónico como *Trichoderma harzianum* (Trichozam®) y hongos micorrízicos (Mycoral®) y las plantas *Brachiaria brizantha* y *Canavalia ensiformis*. Por consiguiente, los objetivos del estudio fueron:

- Evaluar el efecto del tiempo post extracción aurífera a cielo abierto de los sedimentos a uno, dos y cuatro años a la adaptación vegetal.
- Establecer indicadores para monitorear el efecto de la revegetación y tiempo post extracción aurífera sobre estos sedimentos.
- Determinar el efecto de la revegetación sobre los sedimentos residuales de minería utilizando bioestimulantes (micorrizas y *Trichoderma*) con leguminosa (*Canavalia ensiformis*) y gramínea (*Brachiaria brizantha*).

2. METODOLOGÍA

Ubicación de la zona de recolección de material.

La mina Clavo Rico hace extracción aurífera a cielo abierto: Está ubicada en el municipio de El Corpus, Choluteca, Honduras (Figura 1). Se encuentra a una elevación de 294.6 m, con temperatura mínima de 21 °C y máxima de 35 °C. La mina cuenta con una concesión de 200 ha de las cuales actualmente se explotan 18 ha.

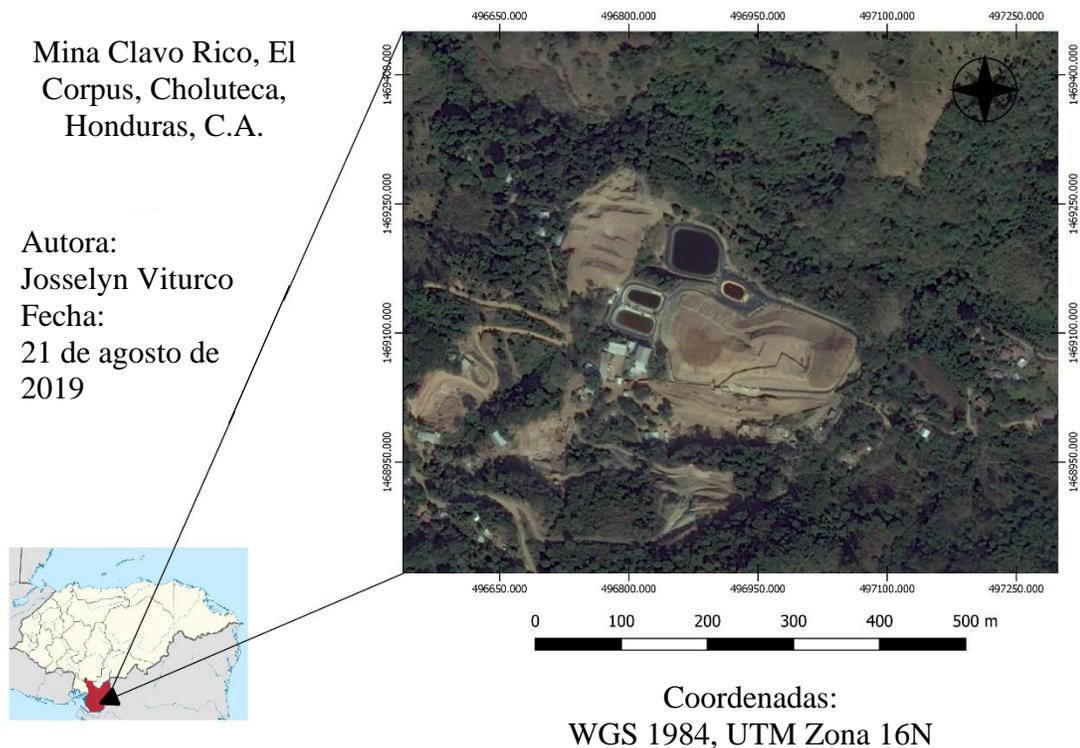


Figura 1. Ubicación de la Mina Clavo Rico

Identificación y recolección del material y muestras para análisis.

Se identificaron áreas con diferentes fechas de cierre de patios de lixiviación (cuatro, dos y un año). Se colectaron aproximadamente 150 kg de sedimentos para cada uno de los sitios seleccionados, se tomó material de los tres puntos, se tuvo un total de tres sacos por punto (con capacidad de 50 kg cada uno) cada saco se identificó con la codificación S1-1 al S1-3, S2-1 al S2-3 y S4-1 al S4-3. El material recolectado se transportó y usó para establecer el experimento en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano (Figura 2).

En una segunda visita se tomaron muestras en cada una de las áreas anteriormente establecidas. En cada uno de los tres puntos identificados se retiró el material superficial y se esterilizó la pala con etanol al 70% y se flameó. Luego se tomó material y se colocó en bolsas con cierre hermético, dos por cada sitio. También, se tomó alrededor de un kilo de material en bolsas de polietileno, dos por sitio, cada bolsa fue identificada con un código. Este proceso se repitió en los tres sitios con diferente edad de extracción. Las bolsas de cierre hermético fueron colocadas en una nevera portátil para análisis biológico y las muestras en polietileno se llevaron a los laboratorios de la EAP Zamorano.

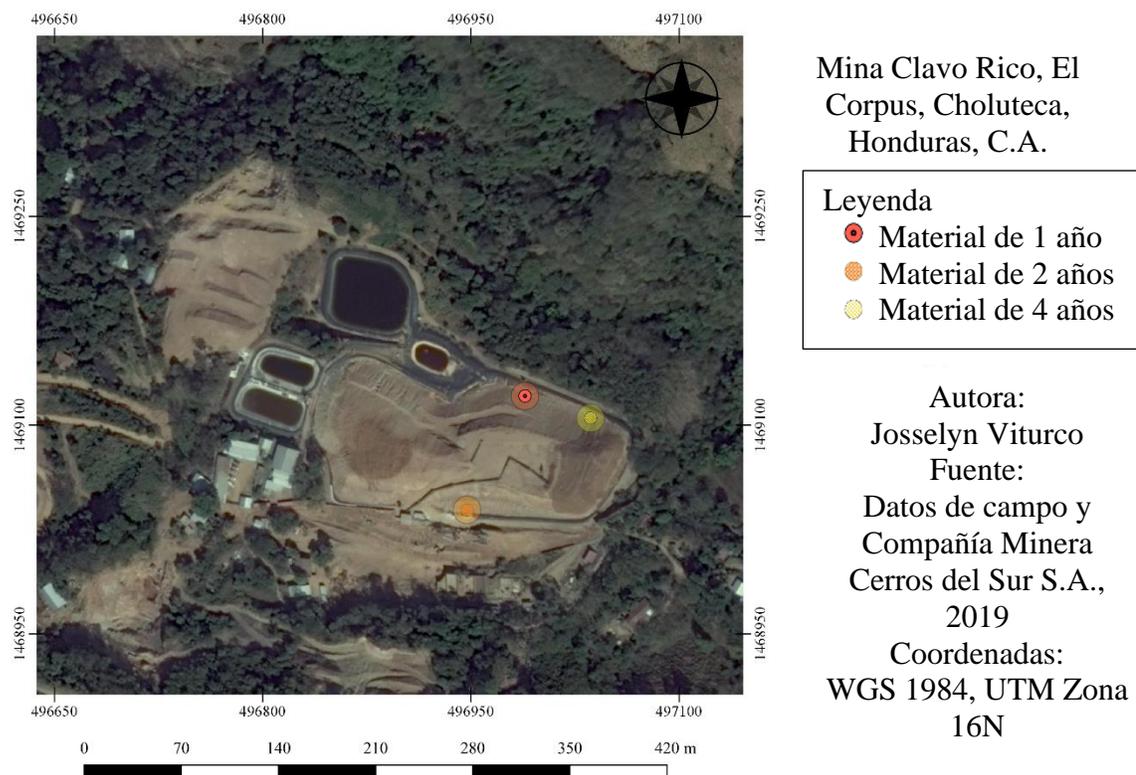


Figura 2. Puntos de recolección de material en la mina Clavo Rico

Análisis inicial de sedimentos.

Los análisis de parámetros químicos y biológico se realizaron en el Laboratorio de Suelos y el laboratorio de Fitopatología de la Escuela Agrícola Panamericana respectivamente. El pH en solución 1:2, conductividad eléctrica en pasta saturada, porcentaje (%) carbono orgánico por el Método de Walkley & Black para suelos minerales no salinos con incertidumbre de ± 0.04 (materia orgánica calculada a partir de COS como $C \times 1.72$). El N total se analizó mediante el método de Kjeldahl y se calculó la relación C/N. Las concentraciones de Ca, Mg y Na en solución extractora Mehlich 3, fueron determinadas por espectrofotometría de absorción atómica y el P total en solución extractora Mehlich 3, por colorimetría.

La densidad microbiana se determinó siguiendo el protocolo para análisis de microorganismos en suelo del laboratorio de Fitopatología de la EAP Zamorano. Se contó en placa las colonias y posteriormente se calculó las Unidades formadoras de Colonias por gramo (UFC/g) de suelo mediante la ecuación 1 (Santana , 2011):

$$\text{UFC/g} = \frac{(\Sigma C \times d)}{S} \quad [1]$$

Donde:

UFC = Unidades formadores de colonias por gramo de suelo

ΣC = Suma de las colonias contadas en las placas

d = Factor de dilución utilizado

s = gramos de suelo utilizado en la dilución seriado

Instalación del experimento.

Preparación de maceteros. Se lavaron con agua y detergente, se desinfectaron con una solución de cloro cada uno de los 108 maceteros de 20.32 cm de diámetro superior y 25 cm de altura. Posteriormente se dejaron secar al sol. Con el material de la mina previamente tamizado y homogenizado se llenó cada macetero con 3.5 kg. Los maceteros se colocaron en el macro túnel sobre bancales plásticos, y luego fueron llenados con una pala y rotulados de acuerdo con la codificación de cada tratamiento.

Manejo de los sedimentos en la mina. Los sedimentos fueron recolectados de una zona denominada patio de lixiviación. Previamente pasaron por una etapa de molienda o trituración de la roca esta es transportada a esta área y se le colocó cal (CaO) para elevar el pH. Luego fue regada mediante aspersión con una solución de cianuro de sodio a una concentración de 250 a 300 ppm mezclada con soda caustica. Finalmente, el material residual es depositado en relaves donde ya no se le realiza ninguna actividad.

Microorganismos utilizados

Mycoral®. Es un producto biológico compuesto por suelo de textura franca y especies de hongos micorrizados de los géneros *Glomus* sp, *Acaulospora* sp y *Entrophosphora* sp en forma de esporas, hifas y raicillas (Macz Barrientos, 2001). Trichizam®. Es un hongo antagonista de patógenos del suelo, y se encuentra en la mayoría de los suelos, coloniza rápidamente las raíces de las plantas (Raudes Reyes, 2006).

Siembra de las especies vegetales. Para el momento de la siembra, las semillas de pasto marandú (*Brachiaria brizantha*) previamente se pusieron a germinar en un sustrato de turba. Las semillas de *Canavalia ensiformis* se sembraron directamente, se colocaron tres semillas por macetero. Para la siembra de canavalia con micorriza se colocaron 75g de Mycoral® en el agujero y se cubrió con otros 75 g adicionales. En la canavalia y Trichizam® se realizó una dilución previa de 1.5 g en un 1,000 mL y luego se colocó de 40 a 50 mL. Este procedimiento se repitió para las plántulas de *B. brizantha*.

Mantenimiento de los cultivos.

Riego. Previamente se aforó con una probeta el caudal de la manguera, para saber la cantidad de tiempo que se debía regar a cada planta teniendo en cuenta la diferencia en la infiltración del agua en el material. Resultó alrededor de 350 mL por maceta para mantener el sustrato húmedo verificando su estado cada día.

Prácticas culturales. Al séptimo día después de emergencia se realizó el raleo para el de canavalia dejando únicamente una planta por macetero. A las dos semanas se realizó el tutorado de canavalia, con una estaca de bambú y un alambre.

Análisis de los sedimentos al finalizar el experimento.

Mientras se extraía la raíz en la bandeja plástica, se tomaron muestras de cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, estas se homogenizaron y se tomó una muestra en una bolsa de polietileno previamente rotulada. Este proceso se repitió para cada uno de los 18 tratamientos. En el laboratorio se registraron y secaron las muestras a temperatura ambiente durante 48 horas. Luego se trituraron y tamizaron con rejilla No. 10 (2 mm). Se midió pH: 1:2 en agua, conductividad eléctrica en pasta saturada, % carbono orgánico (Método de Walkley & Black), N se analizó mediante el método de Kjeldahl y se calculó la relación C/N.

Variables determinadas para las plantas.

Durante el desarrollo de las plantas. Se midió semanalmente altura de ambos cultivos con una cinta métrica y se registró el número de hojas, sin embargo, para esta variable solo se consideró el último registro.

Al finalizar los 45 días. El día 45 se cosecharon y analizaron las plantas de canavalia y las de *Brachiaria brizantha* y se determinó el peso de biomasa seca, longitud, área superficial y diámetro de raíz.

Peso de biomasa seca. Para su determinación se retiró el tutoreo y se cortó el tallo de la base. Se colocó en una bolsa de papel rotulada previamente con la codificación de cada muestra. Se tomó el peso en húmedo y se secaron en el horno a 70 °C durante 48 horas. Una vez seco se pesó en una balanza analítica.

Longitud, área superficial y diámetro de raíz. Una vez cortada la planta se tomó uno a uno los maceteros, se colocó sobre una bandeja plástica, se retiró la raíz del suelo y se lavó con agua tratando de no dañar la raíz y retirar todo el excedente del sustrato. Las raíces fueron colocadas en frascos de vidrio previamente lavados y etiquetados. Finalmente se colocó en estos, una solución de alcohol al 30% hasta cubrir la raíz para preservarlas hasta el momento de analizarlas. Para escanear las raíces se utilizó el equipo Epson Scan Perfection V700, una vez obtenidas y organizadas todas las imágenes se procesaron los resultados con el programa WinRhizho ® el cual proporcionó entre otras variables longitud, área superficial y diámetro promedio.

Tratamientos. Se evaluaron 18 tratamientos: sedimentos de tres tiempos de descanso (cuatro años, dos años y un año) × dos especies vegetales (*Brachiaria brizantha* y *Canavalia ensiforme*) × tres microorganismos (*Trichoderma harzianum* Trichozam®, Micorriza Mycoral® y sin inoculación) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Descripción de tratamientos utilizados en la evaluación de la revegetación de sedimentos de extracción aurífera de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras.

Tiempo post extracción (Años)	Especie vegetal	Microorganismo
Uno	<i>B. brizantha</i>	Sin inoculación
Uno	<i>B. brizantha</i>	Micorriza- Mycoral®
Uno	<i>B. brizantha</i>	<i>T. harzianum</i> - Trichozam®
Uno	<i>C. ensiformis</i>	Sin inoculación
Uno	<i>C. ensiformis</i>	Micorriza- Mycoral®
Uno	<i>C. ensiformis</i>	<i>T. harzianum</i> - Trichozam®
Dos	<i>B. brizantha</i>	Sin inoculación
Dos	<i>B. brizantha</i>	Micorriza- Mycoral®
Dos	<i>B. brizantha</i>	<i>T. harzianum</i> - Trichozam®
Dos	<i>C. ensiformis</i>	Sin inoculación
Dos	<i>C. ensiformis</i>	Micorriza- Mycoral®
Dos	<i>C. ensiformis</i>	<i>T. harzianum</i> - Trichozam®
Cuatro	<i>B. brizantha</i>	Sin inoculación
Cuatro	<i>B. brizantha</i>	Micorriza- Mycoral®
Cuatro	<i>B. brizantha</i>	<i>T. harzianum</i> - Trichozam®
Cuatro	<i>C. ensiformis</i>	Sin inoculación
Cuatro	<i>C. ensiformis</i>	Micorriza- Mycoral®
Cuatro	<i>C. ensiformis</i>	<i>T. harzianum</i> - Trichozam®

Diseño experimental.

Se realizó mediante Parcelas Subdivididas en Bloques Completos al Azar (BCA), con 18 tratamientos cada uno con seis repeticiones en arreglo factorial de 3 × 3 (tres sedimentos × tres microorganismos inoculados) con seis repeticiones cada cultivo, para un total de 108 unidades experimentales, 54 con pasto marandú (*Brachiaria*) y 54 con canavalia. La unidad experimental corresponde a cada planta.

Análisis estadístico. Se utilizó un Modelo Lineal General Mixto, como factores aleatorios la parcela principal y los bloques. Se verificó la normalidad con gráficos de QQplots de los residuales (observados vs. predichos) y la homocedasticidad con gráficos de dispersión de los residuales. Se utilizó VarIdent para transformar los datos. Se determinaron diferencias entre factores y sus interacciones mediante un ANDEVA factorial. Posteriormente se aplicó un LSD de Fisher para comparar los niveles de significancia con $P < 0.05$. Los datos fueron procesados con el programa InfoStat versión 2018.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de los sedimentos.

pH. Los sedimentos presentaron valores de pH de moderada a fuertemente alcalino (9.1, 8.2 y 8.1) lo cual se debe a la cal viva que se aplica a los sedimentos previo a la etapa de cianuración. De acuerdo con Gutiérrez-Ruiz, M., Romero, F. M., & González-Hernández, G. (2007) valores de pH superiores a ocho indican que el drenaje ácido producido por relaves fue neutralizado por la disolución de minerales alcalinos que se aplican durante la extracción. Se puede observar el efecto de las altas cantidades de calcio en los materiales de relave (Cuadro 2). Una vez aplicados los tratamientos, al utilizar canavalia, se observó que el pH se redujo en los sedimentos de un año. Por otro lado, con *Brachiaria brizantha* los valores de pH se mantuvieron fuertemente alcalinos en los sedimentos de uno y dos años con excepción del sedimento de un año con micorriza en el cual fue moderadamente alcalino (8.4) (Cuadro 3) por lo que, se observó la influencia de la micorriza. Carrasco (1992), menciona que en suelos con altas cantidades de carbonatos y bicarbonatos el pH disminuye por aumento de la presión parcial de CO₂ en la atmósfera del suelo, este se combina con agua y forma ácido carbónico que a su vez genera H⁺ que acidifica el suelo.

Conductividad eléctrica. En los sedimentos se puede observar una tendencia decreciente a medida que pasan los años. A un año la CE varía entre 3.21 y 4.15 dS/m, los dos años de 2.06 a 2.88 dS/m y los cuatro años baja a rangos de 1.17 a 2.56 dS/m en los dos cultivos (Cuadro 3). Los sedimentos de cuatro años tuvieron menor cantidad de sales solubles. Lobos (2008) afirma que la cantidad de sales solubles influye en el crecimiento y adaptación de los cultivos.

Materia orgánica, carbono y nitrógeno. El contenido de materia orgánica para los sedimentos fue bajo (< 0.37%); así mismo, el carbono orgánico y el nitrógeno (Cuadro 2). Posterior al ensayo se observó un ligero incremento de estos parámetros en todos los tratamientos, con un mayor contenido de carbono orgánico, los tratamientos inoculados con micorrizas (sedimentos de uno y dos años), en los dos cultivos. La relación C/N aumentó después de los tratamientos con micorriza, con valores entre 6 y 14 para los sustratos con siembra canavalia y entre 5 y 12 para *Brachiaria brizantha*.

Sodio. Por otro lado, se encontraron valores medios de sodio, pues la soda caustica o hidróxido de sodio (NaOH) es uno de los compuestos usados durante la extracción para minimizar la solubilidad de calcio y magnesio y controla el pH (Cuadro 2). El NaOH también es un producto resultante de la reacción con el mineral de interés que es el oro lo que explica la mayor conductividad en los sedimentos de menor tiempo post extracción (Guerrero, 2005).

Cuadro 2. Condición química inicial de los sedimentos colectados, generados por explotación aurífera en la mina Clavo Rico, El Corpus, Choluteca, Honduras.

Material evaluado	pH	CE dS/m	C	M.O. %	N	C:N	mg.kg ⁻¹								
							P	K	Ca	Mg	Na	Cu	Fe	Mn	
Sedimento de 1 año	9.1 _{MFA}	4.6	0.2 _B	0.37	0.1	2.27	10	56 _B	5,658 _A	103 _B	15 _M	4	149	6	
Sedimento de 2 años	8.2 _{MA}	4.4	0.2 _B	0.31	0.09	1.94	18	70 _B	7,972 _A	124 _B	142 _M	12	345	9	
Sedimento de 4 años	8.1 _{MA}	3.2	0.2 _B	0.37	0.11	2.06	19	71 _B	8,064 _A	110 _B	31 _M	10	292	10	
Rango medio	6.0	1.0	1.16	2	0.2	10.00	13	Por: Saturación de bases					2	56	28
	6.5	1.5	2.33	4	0.5	30.00	30						7	112	112

A = alto; M = medio; B = bajo; MFA = muy fuertemente alcalino; MA = moderadamente alcalino.

Cuadro 3. Condición química del material generado por explotación aurífera posterior a revegetación con *Canavalia* y *Brachiaria* en el macro túnel dos del PIF, EAP Zamorano.

Edad de extracción	Inóculo	Canavalia					Brachiaria				
		pH	CE dS/m	C %	N %	C:N	pH	CE dS/m	C %	N %	C:N
Sedimento de 1 año	Micorriza	8.2 _{MA}	3.32	0.37	0.04	9.51	8.4 _{MA}	3.48	0.37	0.04	8.89
	Trichoderma	8.2 _{MA}	3.41	0.26	0.04	6.25	8.6 _{FA}	4.09	0.18	0.04	4.52
	Sin inóculo	8.2 _{MA}	4.15	0.22	0.06	3.98	8.6 _{FA}	3.21	0.18	0.03	6.50
Sedimento de 2 años	Micorriza	8.2 _{MA}	2.46	0.37	0.03	14.12	8.6 _{FA}	2.52	0.41	0.04	9.86
	Trichoderma	8.4 _{MA}	2.63	0.22	0.03	8.18	8.6 _{FA}	2.88	0.22	0.04	5.48
	Sin inóculo	8.4 _{MA}	2.06	0.26	0.04	6.56	8.6 _{FA}	2.57	0.26	0.03	9.49
Sedimento de 4 años	Micorriza	8.1 _{MA}	2.56	0.30	0.05	6.00	8.4 _{MA}	1.36	0.33	0.03	12.19
	Trichoderma	8.2 _{MA}	1.17	0.18	0.03	6.72	8.5 _{FA}	1.73	0.11	0.05	1.94
	Sin inóculo	8.1 _{MA}	1.98	0.33	0.04	8.29	8.6 _{FA}	1.99	0.22	0.03	8.38

MA = moderadamente alcalino; FA = Fuertemente alcalino.

Densidad microbiana

Los microorganismos son indicadores eficientes para estimar el impacto de actividades antropogénicas en especial para la actividad minera, ya que estos responden rápidamente a cualquier cambio en el ecosistema (Vargas Osorio, 2017). La densidad de microorganismos en los sedimentos de relave fue 3.6×10^2 UFC/g, 3.2×10^2 UFC/g y 6.8×10^5 UFC/g para los años uno, dos y cuatro, respectivamente (Figura 3). Esto concuerda con reportes de 8.3×10^2 UFC/g y 5.5×10^4 UFC/g en zonas perturbadas por minería (Romero, M. P., Santamaría, D. M., & Zafra, C. A., 2009).

El bajo número de UFC en los sedimentos podría deberse a elementos tóxicos presentes en estos y a la fuerte modificación de pH como lo confirma Restrepo-Franco et al. (2015) en su estudio. A pesar de esto persisten algunos microorganismos tolerantes los cuales se han adaptado y han adquirido cierta resistencia a la toxicidad.

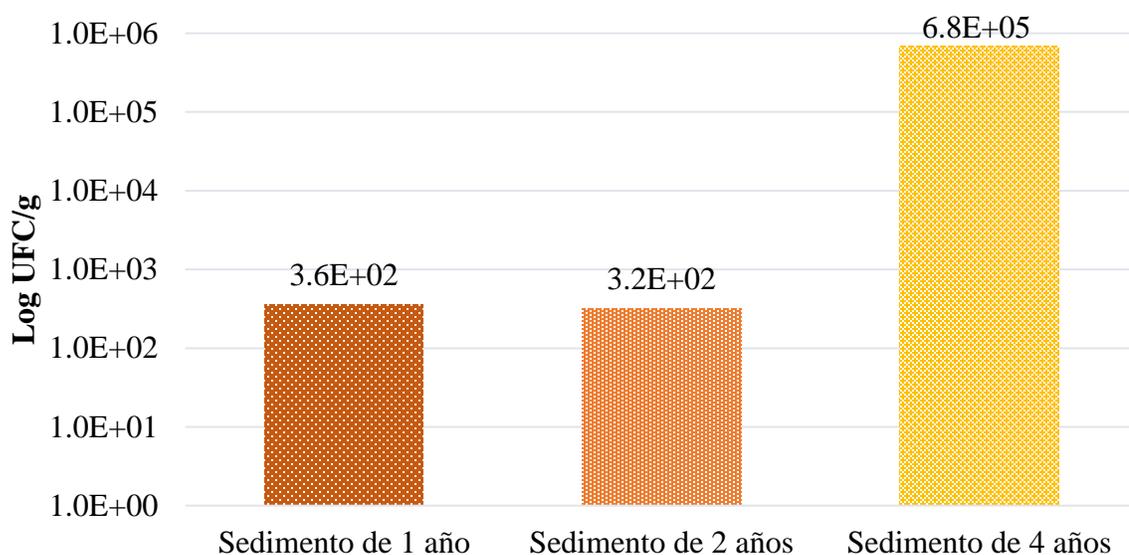


Figura 3. Densidad microbiana de los sedimentos residuales de uno, dos y cuatro años de la mina Clavo Rico, El Corpus, Choluteca, Honduras.

Comportamiento de los cultivos evaluados.

Canavalia ensiformis.

En el factor de tiempo post extracción aurífera fue significativo para las variables altura número de hojas y biomasa seca de la planta. Para las variables longitud área superficial y diámetro de la raíz no fueron significativos ($P \geq 0.05$). En el caso del factor inóculo, no se presentaron diferencias para ninguna de las variables, al igual que para la interacción de los sedimentos e inóculos (Cuadro 4). Esto difiere de los resultados obtenidos por González Cañizares et al. (2016); Martín et al. (2015) y Rivera et al. (2015), quienes reportaron resultados positivos con la inoculación de micorriza en diferentes cultivos y tipos de suelos.

Cuadro 4. Evaluación de las variables altura, número de hojas, biomasa seca, longitud, área superficial y diámetro de raíz de *Canavalia ensiformis* a los 45 días después de emergencia, de los sedimentos residuales de la explotación aurífera de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras.

Factores	Planta			Raíz		
	Altura	Número de hojas	Biomasa seca	Longitud	Área superficial	Diámetro
Tiempo de los sedimentos (TS)	*	*	*	ns	ns	ns
Inóculos	ns	ns	ns	ns	ns	ns
TS × inóculos	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*** = Diferencias altamente significativas ($P \leq 0.0001$), ** = Diferencias muy significativas ($P = 0.001$ a 0.0001), * = Diferencias significativas ($P = 0.05$ a 0.001), ns = no significativo ($P \geq 0.05$)

Altura semanal de la planta. Las plantas obtuvieron mayor altura a partir de la semana tres. No hubo diferencias significativas entre los sedimentos de uno y cuatro años (Figura 4). Las plantas en sedimentos de dos años tuvieron un menor crecimiento con relación a las plantas de los sedimentos de uno y cuatro años, esto durante las seis semanas, lo cual pudo estar relacionado con la calidad del material geológico del «tajo» que se explotó hace dos años.

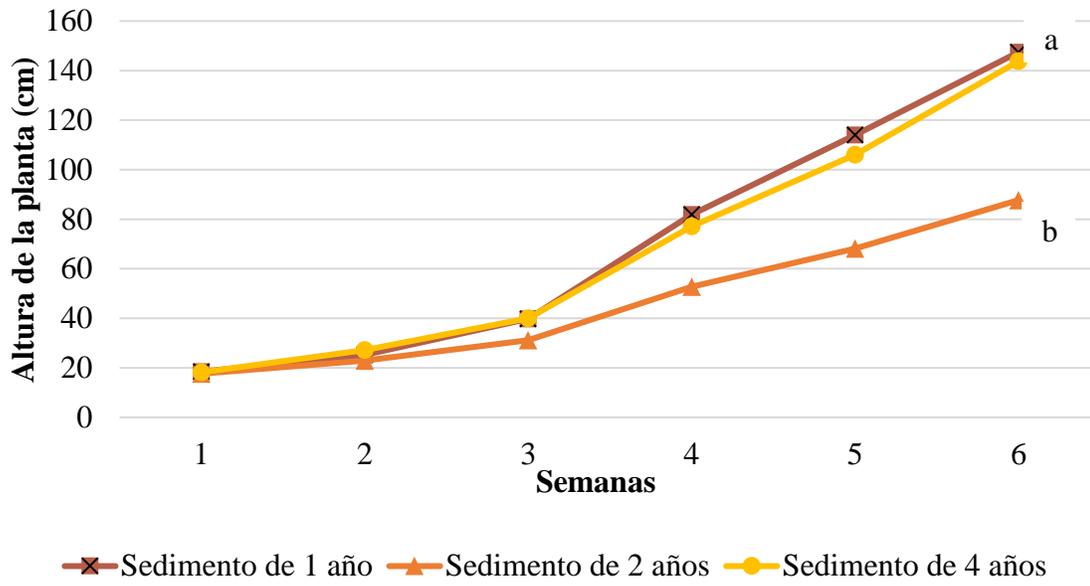


Figura 4. Efecto del tiempo post extracción aurífera en sedimentos residuales de la mina Clavo Rico en la altura semanal de *Canavalia ensiformis*.

Altura de la planta. Las plantas en los sedimentos de uno y cuatro años respectivamente tuvieron una mejor altura en comparación a las plantas en los sedimentos de dos años la diferencia fue de casi dos veces, la mayor altura de la planta se obtuvo con el sedimento de un año con una media de 147 cm lo cual se contrasta con la altura media de las plantas en los sedimentos de dos años que fue de 88 cm (Cuadro 5). De acuerdo con Hidalgo et al. (2010) lo ideal para la revegetación es usar plantas de buen tamaño, pero de raíces superficiales, para así obtener cantidades considerables de biomasa, evite el riesgo de toxicidad y que el sistema sea sostenible en el tiempo.

Número de hojas. Las plantas que crecieron en sedimentos de uno y cuatro años tuvieron una media de 10 hojas con respecto a los de dos años que tuvieron una media de siete hojas. (Cuadro 5). Las variables número de hojas y biomasa seca están relacionadas directamente, esto lo afirma González Aguiar (2018) en su estudio comparó la acumulación de materia seca en caupí y sorgo.

Peso de biomasa seca de la planta. En el cultivo de canavalia las plantas en sedimento de dos años resultaron tener el menor rendimiento con una diferencia en la media de aproximadamente tres gramos con respecto a los sedimentos de uno y cuatro años (Cuadro 5). Esta variable puede ser utilizada como un indicador de toxicidad pues Rodríguez-Elizalde et al. (2010) encontraron que los valores más altos de longitud de raíz corresponden a los tratamientos con menor toxicidad.

Cuadro 5. Efecto del tiempo post extracción aurífera en sedimentos de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras en *Canavalia ensiformis* a los 45 días después de emergencia.

Material evaluado	Planta		
	Altura (cm)	Hojas (No. /pl)	Biomasa seca (g/pl)
Sedimento de 1 año	147.4 a	10 a	6.0 a
Sedimento de 2 años	87.7 b	7 b	3.4 b
Sedimento de 4 años	143.8 a	10 a	5.7 c
R ²	0.31	0.31	0.3
Desviación estándar residual	49.71	3.39	2.2

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

Pasto marandú (*Brachiaria brizantha*).

El factor de tiempo post extracción aurífera en el sedimento fue altamente significativo para altura, número de hojas y biomasa seca de la planta y longitud, y área superficial de la raíz ($P \leq 0.0001$), para el diámetro de raíz no fue significativo ($P \geq 0.05$). Para este cultivo, el factor de inóculos si tuvo influencia en la altura con $P \leq 0.0001$. El número de hojas, peso de biomasa seca, área superficial y diámetro de raíz fueron diferentes en relación con el uso de un inóculo como bioestimulantes con $P = 0.05$ a 0.001 . Sin embargo, no tuvo diferencia significativa para la longitud de raíz. La interacción de material con distintos tiempos de descanso e inóculos fue altamente significativa para altura de la planta y diámetro de la raíz con $P \leq 0.0001$. Esta interacción no fue significativa para número de hojas, longitud y diámetro de raíz (Cuadro 6).

Cuadro 6. Evaluación de las variables altura, número de hojas, biomasa seca, longitud, área superficial y diámetro de la raíz de *Brachiaria brizantha* a los 45 días después de siembra, en los sedimentos residuales de la explotación aurífera de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras.

Factores	Planta			Raíz		
	Altura	Número de hojas	Biomasa seca	Longitud	Área superficial	Diámetro
Tiempo de los sedimentos (TS)	***	***	*	***	***	ns
Inóculos	***	**	**	**	***	*
TS × inóculos	*	*	ns	ns	ns	*

*** = Diferencias altamente significativas ($P \leq 0.0001$), ** = Diferencias muy significativas ($P = 0.001$ a 0.0001), * = Diferencias significativas ($P = 0.05$ a 0.001), ns = no significativo ($P \geq 0.05$)

Altura semanal de la planta. Las plantas con sedimentos de dos años tuvieron una menor altura en las seis semanas evaluadas. Para este cultivo no hubo diferencias significativas entre las alturas semanales en los sedimentos de uno y dos años. Para este cultivo también las alturas se incrementaron a partir de la semana tres.

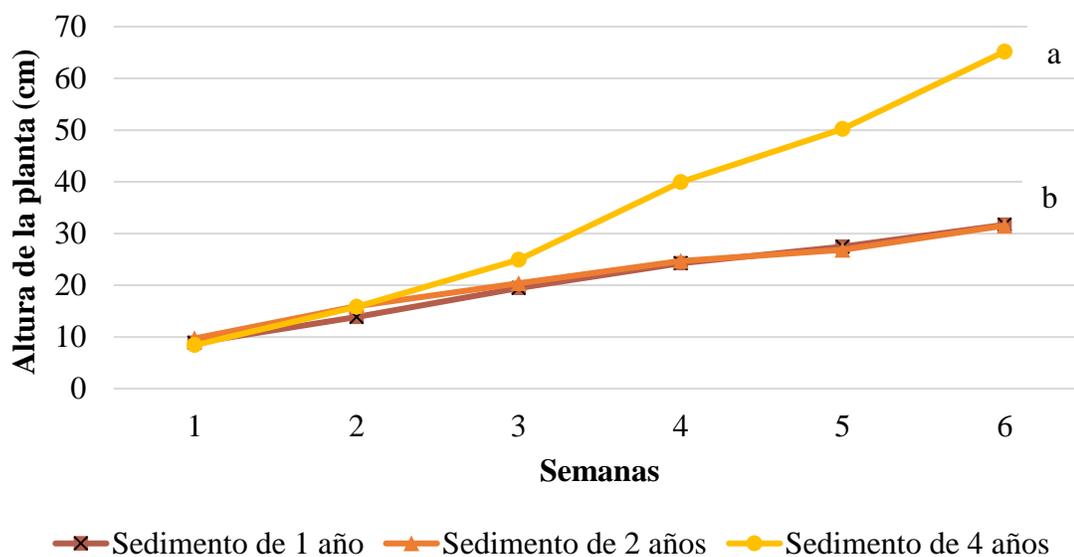


Figura 5. Efecto del tiempo post extracción aurífera en sedimentos residuales de la mina Clavo Rico en la altura semanal de *Brachiaria brizantha*.

B. brizantha, mostró una mayor altura a los 45 días después de siembra al ser inoculado con micorriza, teniendo diferencias muy marcadas de hasta 23 cm con respecto a las que no

fueron inoculadas con esta (Figura 6). Sin embargo, fue indiferente la altura de las plantas inoculadas con *Trichoderma* y las que no fueron inoculadas. El uso de inóculos en especial de micorriza. Autores como: Rivera, 2016; Willis et al., 2013 y Yang et al., 2014 explican el establecimiento de una simbiosis entre el pasto y el inóculo (micorriza) obteniendo un mejor desempeño comparada con las no inoculadas.

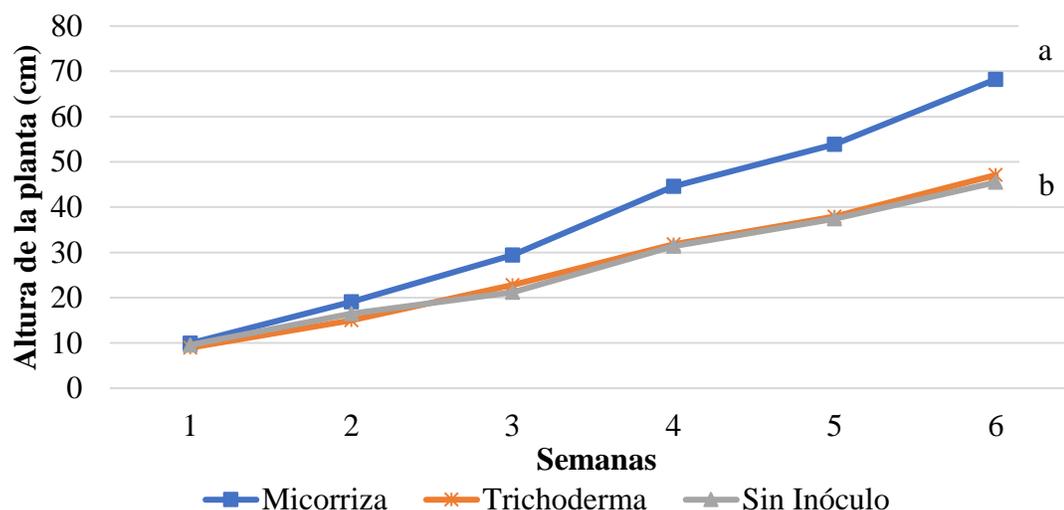


Figura 6. Efecto del uso de inóculos como bioestimulantes sobre la altura semanal de *Brachiaria brizantha*.

Altura del cultivo. La altura de *Brachiaria brizantha* para el factor de tiempo de descanso del material de cuatro años tuvo una media de 65.2 cm esto contrasta con la altura de las plantas en sedimentos de uno y dos años con medias de 31 cm (Cuadro 7). El efecto de los inóculos solo fue significativo para la micorriza, entre *Trichoderma* y el no inoculado no hubo diferencias (Cuadro 8). Para la interacción del material en descanso y el uso de inóculos la mayor altura la tuvieron las plantas con sedimentos de cuatro años y uso de micorriza con una media de 75.8 cm. Plantas con sedimentos de dos años inoculados con micorriza alcanzaron alturas medias 55 y 56 cm respectivamente, las cuales son cercanas a las del sedimento de cuatro años post extracción aurífera (Cuadro 9).

Número de hojas. El pasto marandú (*Brachiaria brizantha*) con respecto a la edad de extracción, mostró que el mejor material fue el sedimento de cuatro años, mientras que no hubo diferencia significativa entre los sedimentos de uno y dos años (Cuadro 7). El número de hojas para *Brachiaria brizantha* con respecto al uso de inóculos aumentaron al ser inoculado con micorriza en comparación con los otros inóculos (Cuadro 8). El número de hojas en la interacción de material de distintos tiempos y el uso de inóculos mostró mayor rendimiento en el material triturado hace cuatro años sin inóculo e inoculado con *Trichoderma* (Cuadro 9).

Peso de biomasa seca de la planta. Para las plantas de *B. brizantha* el sedimento de cuatro años tuvo una media de 0.6 g por planta, mientras que los materiales de uno y dos años no mostraron diferencias entre sí con medias entre 0.23 y 0.33 g. La inoculación de bioestimulantes, en específico de micorrizas resultó tener un efecto positivo en el cultivo, ya que le permitió tener un mayor peso de biomasa seca (Cuadro 7). Esto se da por la asociación micorrícica que ayudan a las plantas al aumentar la absorción de agua, la resistencia de las plantas a presiones ambientales como salinidad, sequía o contaminación por metales pesados (Pincay, 2019).

Longitud de raíz. Para *B. brizantha* se obtuvo que las raíces en el material de hace cuatro años tuvieron mayor longitud una longitud cuatro veces superior que para los sedimentos de uno y dos años (Cuadro 7). Esta variable es una de las más prominentes de las gramíneas forrajeras, esto también se relaciona con su área superficial y un mejor acceso a nutrientes, lo cual a su vez se reflejará en ganancia de biomasa (Mejía Kerguelen et al., 2009).

Área superficial de raíz. Las plantas de *B. brizantha* en el sedimento de cuatro años mostraron una mejor media, seguido de las plantas en los sedimentos de uno y dos años los cuales resultaron indiferentes entre sí (Cuadro 7). El uso de inóculos sigue a misma tendencia, es decir, el inocular con micorriza se manifiesta en mayor área superficial de raíz (Cuadro 8). La distribución de raíces tiene influencia en el desarrollo de la estructura del suelo y también afecta la productividad de los agroecosistemas (Rilling et al., 2015). Este factor influye en el crecimiento de los cultivos pues la distribución de raíces influye en la oxigenación y absorción de agua y nutrientes (Albino-Garduño et al., 2015).

Cuadro 7. Efecto del tiempo post extracción aurífera en sedimentos residuales de la mina Clavo Rico, Choluteca, Honduras en el cultivo de *Brachiaria brizantha* a los 45 días después de siembra.

Material evaluado	Planta			Raíz	
	Altura (cm)	Hojas (No. /pl)	Biomasa seca (g/pl)	Longitud (cm)	Área superficial (cm ²)
Sedimento de 1 año	31.7 b	3 b	0.33 b	141.5 b	19.1 b
Sedimento de 2 años	31.5 b	3 b	0.23 b	110.0 b	14.5 b
Sedimento de 4 años	65.2 a	5 a	0.59 a	411.5 a	51.7 a
R ²	0.8	0.72	0.49	0.73	0.77
Desviación estándar residual	8.5	0.67	0.20	70.81	9.78

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P < 0.05)

Diámetro de raíz. Esta variable no resultó significativa para el factor de tiempo post extracción aurífera y el uso de inóculos. Sin embargo, el uso de micorrizas favoreció el ligero engrosamiento de raíces, mientras que el uso de *Trichoderma* resultó en un diámetro menor que con micorriza, el hecho de no inocular los cultivos resultó indiferente para esta variable (Cuadro 8). El efecto del tiempo post extracción y el uso de inóculos solamente las raíces en sedimento de un año tuvieron las raíces con mayor grosor al utilizar micorriza y menor las raíces de menor grosor al usar *Trichoderma* o no usar nada. La diferencia entre estos fue de unos 0.15 mm, en el resto de los tratamientos no hubo una diferencia marcada (Cuadro 9). Cabe mencionar que raíces más gruesas no indican mejor estado, pues el grado de compactación del material tiene gran influencia en el grosor y la resistencia a la penetración del material tiene un efecto inverso en la elongación, pero directo en el diámetro promedio de la raíz (Bennie, 1996).

Cuadro 8. Efecto del uso de inóculos como bioestimulantes en la revegetación con *Brachiaria brizantha* a los 45 días después de siembra.

Inóculo	Planta			Raíz		
	Altura (cm)	Hojas (No.)	Biomasa seca (g)	Longitud (cm)	Área superficial (cm ²)	Diámetro (mm)
Micorriza	62.4 a	4.06 a	0.54 a	294.81 a	40.32 a	0.45 a
Trichoderma	33.1 b	3.17 b	0.29 b	201.72 b	24.06 b	0.38 b
Sin Inóculo	32.8 b	3.11 b	0.32 b	166.31 b	20.95 b	0.42 a
R ²	0.9	0.7	0.49	0.73	0.77	0.33
D. estándar residual	8.5	0.7	0.20	70.81	9.78	0.06

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P < 0.05)

Cuadro 9. Efecto del tiempo post extracción aurífera de sedimentos residuales y el uso de inóculos como bioestimulantes en la evaluación de revegetación con *Brachiaria brizantha*.

Tratamientos		Planta		Raíz
		Altura a 45 DDS (cm)	Hojas 45 DDS (No. /pl.)	Diámetro (mm)
		Sedimento de 1 año	Micorriza	55 b
Sedimento de 1 año	Trichoderma	18.8 c	2.5 c	0.37 c
Sedimento de 1 año	Sin inóculo	21.3 c	2.2 c	0.36 c
Sedimento de 2 años	Micorriza	56.3 b	3.5 b	0.44 abc
Sedimento de 2 años	Trichoderma	18.9 c	2.2 c	0.38 c
Sedimento de 2 años	Sin inóculo	19.3 c	2.3 c	0.49 ab
Sedimento de 4 años	Micorriza	75.8 a	4.5 a	0.41 bc
Sedimento de 4 años	Trichoderma	60.8 b	4.8 a	0.39 c
Sedimento de 4 años	Sin inóculo	58.8 b	4.8 a	0.43 abc

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P < 0.05). DDS= días después de siembra.

4. CONCLUSIONES

- El tiempo post extracción aurífera ejerce influencia sobre las características químicas y biológicas de los sedimentos residuales. A los dos años la calidad del material es más limitada para el crecimiento vegetal. A cuatro años el sedimento alcanza condiciones más favorables para el crecimiento de las plantas.
- La condición química y biológica de los sedimentos en los dos primeros años post extracción resultó una limitante para el crecimiento de la gramínea (*Brachiaria brizantha*) la que se adaptó mejor en sedimentos de cuatro años. La leguminosa (*Canavalia ensiformis*) fue capaz de adaptarse mejor a condiciones adversas en este caso sedimentos de un año post extracción, teniendo un comportamiento similar que en sedimentos de cuatro años.
- La simbiosis entre *Brachiaria* y micorrizas favorece el desarrollo de la planta en todos los sedimentos.
- El establecimiento de la leguminosa y la gramínea favorecieron la rehabilitación de los sedimentos mineros. Los mejores indicadores para la revegetación fueron el pH, la conductividad eléctrica, el contenido de Carbono Orgánico del Suelo (COS), relación carbono nitrógeno (C/N) y la densidad microbiana.

5. RECOMENDACIONES

- Revegetar los sedimentos residuales generados por extracción aurífera a cielo abierto desde el primer año post-extracción, preferiblemente con *Canavalia ensiformis* en simbiosis con micorriza (Mycoral-R), para acelerar el proceso de rehabilitación.
- Revegetar los sedimentos con *Brachiaria* micorrizada a partir del cuarto año post-extracción.
- Realizar aislamientos de microorganismos presentes en los materiales en descanso e identificarlos mediante técnicas moleculares a fin de obtener cepas capaces de degradar compuestos tóxicos en relaves mineros.
- Evaluar durante más tiempo el efecto de la bioestimulación de los sedimentos con micorrizas ya que se espera que los cultivos serán capaces de seguir proporcionando compuestos orgánicos a través de exudados de sus raíces y de sus restos vegetales, por lo que a largo plazo se convertiría en un sistema autosustentable.

6. LITERATURA CITADA

- Adler, S. E., Bergquist, B. A., Guimaraes, J. R., Lees, P. S., Miserendino, R. A., Niquen, W., & Veiga, M. M. (2013). Challenges to measuring, monitoring, and addressing the cumulative impacts of artisanal and small-scale gold mining in Ecuador. *Resources Policy*, 713-722.
- Albino-Garduño, R., A. Turrent-Fernández, J. I. Cortés-Flores, M. Livera-Muñoz, y M. C. Mendoza-Castillo. (2015). Distribución de raíces y de radiación solar en el dosel de maíz y frijol intercalados. *Agrociencia* 49: 513-531.
- Bennie, A. T. (1996). Growth and mechanical impedance. In: Y. Waisel, A. Eshel, and U. Kafkafi (eds). *Plants Roots. The Hidden Half*. Marcel Dekker. New York, NY, USA. pp: 453-470.
- Bradshaw, A.D., Johnson, M.S., (1992). Revegetation of metalliferous mine waste: the range of practical techniques used in Western Europe. In: *Minerals, Metals and the Environment*. Institute of Mining and Metallurgy, London, 481 p.
- Carrasco, M. A. (1992). El suelo como sistema químico. Vera W.: *Suelos, una visión actualizada del recurso*. Publicaciones Miscelaneas Agrícolas, (38).
- Espín, D., Jarrín, J., & Escobar, O. M. (2017). Manejo, gestion y disposición final de relaves mineros generados en el Proyecto Río Blanco. *Revista de Ciencias de Seguridad y Defensa*, II. 1-13.
- Garbisu, C., Becerril, J. M., Epelde, L., & Alkorta, L. (2007). Bioindicadores de la calidad del suelo: herramienta metodológica para la evaluación de la eficacia de un proceso fitorremediador. *Revista Ecosistemas*, 16(2).
- Giraldo, R. D. (2017). Procesos de degradación de suelos asociados a minería aurífera a cielo abierto, caso de estudio Bajo Cauca Antioqueño, (Tesis Doctoral). Medellín, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- González Aguiar, D., Álvarez Hernández, U., & Lima Orozco, R. (2018). Acumulación de biomasa fresca y materia seca por planta en el cultivo intercalado caupí - sorgo. *Centro Agrícola*, 45(2), 77–82.
- González Cañizares, P. J., Ramírez Pedroso, J. F., Espinosa, R. R., Jiménez, A. H., & Flores, G. C. (2016). Efectividad de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en dos leguminosas forrajeras cultivadas en dos tipos de suelo. *Tropical Grasslands-Forrajeras Tropicales*, 4(2), 82–90. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(13\)60024-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(13)60024-7)
- Guerrero, J. (2005). Cianuro: Toxicidad y Destrucción Biológica. *El Ingeniero de Minas*, 10 (noviembre 2013), 22–25.

- Gutiérrez-Ruiz, M., Romero, F. M., & González-Hernández, G. (2007). Suelos y sedimentos afectados por la dispersión de jales inactivos de sulfuros metálicos en la zona minera de Santa Barbara, Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 24(2), 170–184.
- Hidalgo Camarena, P., Espinoza Tumialan, P., & Figueroa Tauquino, R. (2010). Ensayo de adaptación de especies vegetales para la cobertura vegetal de los relaves mineros de la planta concentradora Santa Rosa de Jangas. *Aporte Santiaguino*, 3(1), 18. <https://doi.org/10.32911/as.2010.v3.n1.416>
- Li, Z., Ma, Z., van der Kuijp, T. J., Yuan, Z., & Huang, L. (2014, January 15). A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment. *Science of the Total Environment*. Elsevier.
- Lobos Chamorro, M. J. (2008). Efectividad de Biosólidos para la fitoestabilización de un tranque de Relaves Minero, en la Comuna de Nogales. Tesis de pregrado. Santiago de Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales.
- Macz Barrientos, H. (2001). Evaluación de Mycoral® y humus líquido en el crecimiento de plátano en vivero y campo. Proyecto Especial de Graduación para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras.
- Martín, G.M., R. Reyes, y J.F. Ramírez. (2015). Coinoculación de *Canavalia ensiformis* (L.) D.C. con *Rhizobium* y hongos micorrízicos arbusculares en dos tipos de suelos de Cuba. *Cultura Tropical* 36(2):22-29.
- Mejía Kerguelen S., Idupulapati Rao, Ramírez H., Louw-Gaume, Alain Gaume & Emmanuel Frossard. (2009). Atributos morfológicos y fisiológicos de genotipos de *Brachiaria* en un suelo con bajo fósforo disponible y alta saturación de aluminio. *Acta Agronómica*, 58(1), 1–8.
- Meuser, H. (2012). *Soil Remediation and Rehabilitation* (Vol. 23). Berlin: Springer.
- Moynahan, O. S., Zabinski, C. A., & Gannon, J. E. (2002). Microbial community structure and carbon-utilization diversity in a mine tailings revegetation study. *Restoration Ecology*, 10(1), 77–87. <https://doi.org/10.1046/j.1526-100X.2002.10108.x>
- Paradelo, R. (2013). Utilización de materiales compostados en la rehabilitación potencial de espacios afectados por residuos mineros y suelos de mina. *Boletín Geológico y Minero*, 124(3), 405–419.
- Paz-Ferreiro, J., & Fu, S. (2016). Biological Indices for Soil Quality Evaluation: Perspectives and Limitations. *Land Degradation and Development*, 27(1), 14–25. <https://doi.org/10.1002/ldr.2262>
- Pincay, E., Yaren, A., & Vallejo Caicedo, R. P. (2019). Absorción y bioacumulación de metales pesados de tres especies vegetales introducidas en la amazonia ecuatoriana en relaves mineros. Tesis de pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Porta, J., López, M., & Poch, R. M. (2014). *Edafología Uso y Protección de Suelos Cataluña*: Ediciones Mundi-Prensa.

- Raudes Reyes, M. (2006). Efecto de la aplicación de Trichozam® (*Trichoderma harzianum*) en la promoción del rendimiento de tomate, chile dulce y pepino en invernaderos de Zamorano. EAP Zamorano, Honduras.
- Razanamahandry, LC, Andrianisa, HA, Karouri, H., Podgorski, J., & Yacouba, H. (2018). Modelo de predicción de la contaminación del suelo con cianuro en la zona de extracción de oro artesanal mediante regresión logística. *Catena*, 162, 40-50.
- Restrepo-Franco, G. M., Marulanda-Moreno, S., de la Fe-Pérez, Y., Díaz-de la Osa, A., Lucia-Baldani, V., & Hernández-Rodríguez, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 46(1), 63-76.
- Rillig, M. C., Aguilar-Trigueros, C. A., Bergmann, J., Verbruggen, E., Veresoglou, S. D., & Lehmann, A. (2015, March 1). Plant root and mycorrhizal fungal traits for understanding soil aggregation. *New Phytologist*. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/nph.13045>
- Rivera, R. (2016). Renovación de cuatro cepas de micorriza vesículo arbuscular en cultivo de perejil (*Petroseinum crispum*) y pasto marandú (*Brachiaria brizantha*) en macrotunel, Zamorano, Honduras. Proyecto Especial de Graduación para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras.
- Rivera, R., P.J. González, A. Hernández, G. Martín, L. Ruíz, K. Fernández, J. Simó, M. García, A. Pérez, M. Riera, C. Bustamante, J.P. Joao, y M. Ruiz. (2015). La importancia del ambiente edáfico y del pH sobre la efectividad y la recomendación de cepas eficientes de AMF para la inoculación de los cultivos. En: Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo, editor, Memorias del VIII Congreso de la Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo. Sociedad Cubana de la Ciencia del Suelo, La Habana, CUB. p. 12.
- Rodríguez-Elizalde, M. D. L. Á., Delgado-Alvarado, A., González-Chávez, M. D. C. A., Carrillo-González, R., Mejía-Muñoz, J. M., & Vargas-Hernández, M. (2010). Emergencia y crecimiento de plantas ornamentales en sustratos contaminados con residuos de mina. *Interciencia*, 35(1).
- Romero, M. P., Santamaría, D. M., & Zafra, C. A. (2009). Bioingeniería y suelo: abundancia microbiológica, pH y conductividad eléctrica bajo tres estratos de erosión. *Umbral científico*, 15, 67-74.
- Santana, L. (2011). Manual de prácticas microbiología industrial. México: Universidad Autónoma de ciudad Juárez.
- SERNA. (Secretaría de Recursos Naturales y Ambiente) (21 de septiembre de 2017). Aprobación del Reglamento del Cierre de Minas. Secretaría de Energía, Recursos Naturales, Ambiente y Minas.
- Tordoff, G. M., Baker, A. J. M., & Willis, A. J. (2000). Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. *Chemosphere*, 41(1-2), 219-228. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00414-2](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00414-2)

- Van Bruggen, A. H. C., & Semenov, A. M. (2000). In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Applied Soil Ecology*, 15(1), 13–24. [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(00\)00068-8](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(00)00068-8)
- Vargas Osorio, L. J. (2017). Evaluación de indicadores microbiológicos en suelos de un área impactada por la minería de oro, en el municipio de Santa Isabel-Tolima.
- Williamson, A., Johnson, M.S., (1981). Reclamation of metalliferous mine wastes. In: Lepp, N.W. (Ed.), *Effect of Heavy Metal Pollution on Plants*, vol. 2. Applied Science Publishers, Barking, Essex, UK, pp. 185-212.
- Willis, A., B.F. Rodrigues, and P.J.C. Harris. (2013). The ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Crit. Rev. Plant Sci.* 32:1-20.
- Yang, W.C., A. Ellouze, A. Navarro-Borrell, T.R. Esmaili, M. Klabi, Z.K. Dai, and C. Hamel. 2014. Management of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. sustainable crop production. In: Z.M. Solaiman et al., editors, *Mycorrhizal fungi: Use in sustainable agriculture and land restoration*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, DEU. p. 89-118. doi:10.1007/978-3-662-45370-4_7

7. ANEXO

Anexo 1. Protocolo del laboratorio de Fitopatología de la EAP Zamorano utilizado para determinar el estimado de hongos y bacterias en los sedimentos utilizados.



Protocolo para análisis de microorganismo en suelo

1. Seque al aire una muestra de suelo de aproximadamente 250 g (peso húmedo) por 2 días a 24 °C.
2. Pese 5 g de suelo seco y afofe a 50 mL agua destilada estéril en un tubo Falcon.
3. Colocar la muestra en el orbital por 5 min/300 rpm.
4. Colocar en el microondas el medio completo para hongos (MCH) semisólido y 600 mL de agua filtrada para el baño María.
5. Aclimatar 3 platos Petri por muestra en la cámara de flujo laminar. Rotular los platos con: nombre la muestra, fecha, iniciales del nombre y dilución de la muestra.
6. Centrifugar las muestras usando el rotor SN943 a 500 rpm/5 min/ mínima aceleración y desaceleración.
7. Usando una pipeta estéril transfiera 900 uL del supernadante a un tubo Eppendorf de 1.5 mL (dilución 10^{-1}).
8. Realizar diluciones seriadas de 1:10, es decir, colocar 900 uL de agua destilada estéril y añadir 100 uL del tubo anterior hasta la dilución 10^{-6} .
9. Colocar 3 mL de MCH semisólido en los tubos de ensayo en el baño María Trabajar rápido para evitar que se solidifique.
10. Mezclar los 3 mL del tubo con medio MCH con 100 uL de la dilución 10^{-6} de la muestra. Repetir este paso con diluciones 10^{-4} y 10^{-2} .
11. Mezclar bien y verter rápidamente el contenido del tubo en 1 plato agar agua y distribuir uniformemente con movimientos sutiles.
12. Observar los platos Petri 24 y 48 horas después.
13. Contar el número de hongos y bacterias encontrados.