



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**RESPUESTA MICROBIANA A LA ADICIÓN DE
ENMIENDAS ORGÁNICAS EN SUSTRATOS ÁCIDOS
DERIVADOS DE ACTIVIDAD MINERA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA
TIERRA**

P R E S E N T A :

NADIA EDITH NAVA ARSOLA



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. BRUNO MANUEL CHÁVEZ VERGARA**

Ciudad Universitaria, Cd. Mx, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno.

Nava
Arsola
Nadia Edith
58 47 63 89
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Ciencias de la Tierra
310041823

2. Datos del tutor.

Dr.
Bruno Manuel
Chávez
Vergara

3. Datos del sinodal 1.

Dra.
Christina Désirée
Siebe
Grabach

4. Datos del sinodal 2.

Dr.
Facundo
Rivera
Becerril

5. Datos del sinodal 3.

Dr.
Rodolfo Omar
Arellano
Aguilar

6. Datos del sinodal 4.

Dra.
Vinisa
Saynes
Santillán

7. Datos del trabajo escrito.

Respuesta microbiana a la adición de enmiendas orgánicas en sustratos ácidos derivados de actividad minera.
74 p.
2018

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias y a la Coordinación de Ciencias de la Tierra.

Al Instituto de Geología de la UNAM (IGI, UNAM) por las facilidades para el uso de las instalaciones y laboratorios en los que realicé los análisis.

Al Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía (LANGEM) por las facilidades para el uso de las instalaciones y laboratorios en los que realice los análisis.

Al Laboratorio de Biogeoquímica (IGI, UNAM-LANGEM) por todo el apoyo y comprensión que me dieron durante la determinación de los análisis químicos y de actividad biológica de la presente tesis.

A la M. en C. Ofelia Ivette Beltrán Paz (Profesora del Posgrado en Ciencias de la Tierra) por su apoyo y paciencia en la determinación de todos los análisis químicos en el Laboratorio de Biogeoquímica (IGI-LANGEM).

A la M. en C. Iris Suárez Quijada del Laboratorio de Microcosmos Bioedáfico (IGI, UNAM) por el préstamo de equipo y las facilidades de acceso al invernadero para el montaje del experimento en mesocosmos y al cuarto de temperatura controlada para el experimento en microcosmos.

A la Q.F.B. Fabiola Vega García del Laboratorio de Geoquímica Ambiental (IGI, UNAM-LANGEM) por la provisión de los residuos ácidos de mina usados en la presente tesis.

Al Dr. Juan Carlos Durán Álvarez del Laboratorio Universitario de Nanotecnología Ambiental (LUNA) del CCADET, UNAM por los análisis de carbono en fase líquida.

Al Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) por otorgarme una beca de apoyo para la realización de la tesis en el marco del proyecto: Enseñanza teórica y práctica del diseño de suelos urbanos (PE102217).

A la compañía Green to Energy (G2E) por la provisión del biocarbón utilizado en la presente tesis.

A la Dra. Christina Désirée Siebe Grabach por contagiarme su amor y pasión por el suelo, y por acercarme con las personas indicadas para la realización de la tesis.

Al Dr. Facundo Rivera Becerril, Dr. Rodolfo Omar Arellano Aguilar y a la Dra. Vinisa Saynes Santillán por interesarse en mi trabajo y aceptar se parte del jurado de examen.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

A mis padres María y Felipe, por todo su amor, apoyo y comprensión en todo momento, por enseñarme a no dejarme vencer por nada y a ser una mejor persona cada día.

A mis hermanos Nancy y Diego, por ser mis cómplices y mis mejores amigos, porque son lo mejor que me pudo haber pasado en la vida, y porque no hay nada que disfrute más que estar con ustedes.

A mi tío Armando †, por tener toda mi admiración y ser siempre mi ejemplo a seguir.

A la familia Arsola, por todo su apoyo y buenas vibras.

Al Dr. Bruno Manuel Chávez Vergara por aceptarme como su alumna, por enseñarme el mundo de la biogeoquímica, por ser más que un tutor, un gran amigo para mí. Por contagiarme ese buen humor y por ser un gran ejemplo a seguir como investigador y como persona.

A la Mtra. Ofelia Ivette Beltrán Paz por ser siempre amable y paciente conmigo, por enseñarme a ser una master en el laboratorio como ella, además de otorgarme su confianza y amistad.

A mi mejor amiga Alejandra, gracias por brindarme tu amistad y confianza, por ayudarme siempre que lo necesité y por ser mi compañera en este camino ambientalista que decidimos emprender.

A mis amig@s (Jess, Diana, Clau, Pris, Bal, Mariana, Lilo y Gus), por todo su apoyo y lealtad, por compartir mis principios e ideales y por enseñarme el valor de la amistad.

A todos mis compañeros del BiogeoMi, que con su presencia se hizo más amena y divertida mi estancia en el laboratorio.

«El mejor científico está abierto a la experiencia, y ésta empieza con el romance, es decir, con la idea de que todo es posible».

Ray Bradbury

Tesis dedicada a...

MIS PADRES

Por todo su amor, apoyo
y comprensión

MIS HERMANOS

Porque son y serán siempre
mis mejores amigos

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABLAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMEN.....	1
SUMMARY	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1. <i>LA MINERÍA COMO FUENTE DE CONTAMINACIÓN.</i>	4
2.2. <i>INDICADORES DE ACTIVIDAD MICROBIANA.</i>	8
2.3. <i>USO DE ENMIENDAS ORGÁNICAS COMO MEJORADOR DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA.</i>	11
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS	16
5. HIPÓTESIS.....	17
6. METODOLOGÍA	18
6.1. <i>ÁREA DE ESTUDIO.</i>	18
6.2. <i>COLECTA DE MUESTRAS.</i>	19
6.3. <i>EXPERIMENTO DE ADICIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS.</i>	19
6.4. <i>ANÁLISIS DE LABORATORIO.</i>	20
6.5. <i>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.</i>	24
7. RESULTADOS	26
7.1. <i>EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS Y DEL CAMBIO DE CONDICIONES SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN JALES MINEROS.</i>	26
7.2. <i>EFECTO SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA POR EL ESTABLECIMIENTO DE PLANTAS EN JALES MINEROS.</i> 32	
7.3. <i>EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS Y DEL ESTABLECIMIENTO DE UNA PLANTA SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN JALES MINEROS.</i>	34
8. DISCUSIÓN	39
8.1. <i>EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS Y DEL CAMBIO DE CONDICIONES SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN JALES MINEROS.</i>	39
8.2. <i>EFECTO SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA POR EL ESTABLECIMIENTO DE PLANTAS EN JALES MINEROS.</i> 43	
8.3. <i>EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS Y DEL ESTABLECIMIENTO DE UNA PLANTA SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA EN JALES MINEROS.</i>	46
9. CONCLUSIONES.....	50
10. REFERENCIAS.....	51
11. ANEXO	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modelo de mineralización e inmovilización de C en sistemas con presencia de C lábil y estable.	9
Figura 2. Proceso de generación de biocarbón (Modificado de: International Biochar Initiative, 2017).	12
Figura 3. Proceso de generación de composta (Modificado de Farm to Table, 2017).	14
Figura 4. Ubicación de la mina “El Fraile” en el municipio Taxco de Alarcón del estado de Guerrero (Modificado de: Gómez et al., 2010).	18
Figura 5. Media (\pm error estándar) de la biomasa microbiana (C_{mic}) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “ <i>tiempo</i> ” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.	26
Figura 6. Media (\pm error estándar) de la enzima β -glucosidasa (BG) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “ <i>tiempo</i> ” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.	28
Figura 7. Media (\pm error estándar) de la enzima fosfatasa (FOS) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “ <i>tiempo</i> ” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.	28
Figura 8. Media (\pm error estándar) de la enzima polifenol oxidasa (PFO) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “ <i>tiempo</i> ” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.	28
Figura 9. Media (\pm error estándar) de la enzima deshidrogenasa (DHG) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “ <i>tiempo</i> ” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.	28
Figura 10. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima β -glucosidasa (AEE BG) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “ <i>tiempo</i> ” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.	30
Figura 11. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima fosfatasa (AEE FOS) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes	

representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “tiempo” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 30

Figura 12. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima polifenol oxidasa (AEE PFO) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 30

Figura 13. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima deshidrogenasa (AEE DHG) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamiento. 30

Figura 14. Medias (\pm error estándar) de la mineralización de carbono en forma de dióxido de carbono ($C-CO_2$) para los tratamientos. Letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 31

Figura 15. Medias (\pm error estándar) del coeficiente metabólico (qCO_2) para cada tratamiento. Letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 31

Figura 16. Medias (\pm error estándar) de la enzima β -glucosidasa (BG) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta. 32

Figura 17. Medias (\pm error estándar) de la enzima fosfatasa (FOS) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta. 32

Figura 18. Medias (\pm error estándar) de la enzima polifenol oxidasa (PFO) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta 32

Figura 19. Medias (\pm error estándar) de la enzima deshidrogenasa (DHG) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta. 32

Figura 20. Medias (\pm error estándar) de la biomasa microbiana (C_{mic}) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta. 33

Figura 21. Medias (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de β -glucosidasa (AEE BG) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta. 33

Figura 22. Medias (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de fosfatasa (AEE FOS) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta. 33

Figura 23. Medias (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de polifenol oxidasa (AEE PFO) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta. 34

Figura 24. Medias (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de deshidrogenasa (AEE DHG) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta. . 34

Figura 25. Media (\pm error estándar) de la biomasa microbiana (C_{mic}) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 35

Figura 26. Media (\pm error estándar) de la enzima β -glucosidasa (BG) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 36

Figura 27. Media (\pm error estándar) de la enzima fosfatasa (FOS) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 36

Figura 28. Media (\pm error estándar) de la enzima polifenol oxidasa (PFO) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 36

Figura 29. Media (\pm error estándar) de la enzima deshidrogenasa (DHG) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 36

Figura 30. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima β -glucosidasa (AEE BG) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 38

Figura 31. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima fosfatasa (AEE FOS) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y

letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 38

Figura 32. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima polifenol oxidasa (AEE PFO) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 38

Figura 33. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima deshidrogenasa (AEE DHG) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. 38

Figura 34. Modelo de mineralización e inmovilización de C para los tratamientos. El ancho de las flechas indica magnitud en la cantidad de C mineralizado o inmovilizado. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. ... 40

Figura 35. Modelo general de los efectos de la adición de enmiendas orgánicas y de la incubación sobre la actividad microbiana en jales mineros. a. tratamiento control en el tiempo cero, b. tratamientos con adición de enmiendas orgánicas sin incubar y c. tratamientos con adición de enmiendas orgánicas y sometidos a incubación. El grosor de los cuadros indica aumento. C_{En} =Carbono proveniente de las enmiendas orgánicas. 43

Figura 36. Modelo de los efectos de la planta sobre la actividad microbiana en jales mineros. 45

Figura 37. Modelo de inmovilización de C en los tratamientos a. con ausencia y b. con presencia de la planta. El tamaño de los círculos representa la concentración ($\mu\text{g C g}^{-1}$) de C inmovilizado en biomasa microbiana. C_{En} =Carbono proveniente de las enmiendas orgánicas, C_{Ex} =Carbono proveniente de los exudados de las plantas. Las letras representan los tratamientos: J = Jal, C =Composta, B =Biocarbón y M = Mezcla. 46

Figura 38. Modelo general de los efectos de la adición de enmiendas orgánicas y de la presencia de la planta sobre la actividad microbiana en jales mineros. a. tratamiento control, b. tratamientos con adición de enmiendas orgánicas y sin planta y c. tratamientos con adición de enmiendas orgánicas con planta. El grosor de los cuadros indica aumento. C_{En} =Carbono proveniente de las enmiendas orgánicas, C_{Ex} =Carbono proveniente de los exudados y raíces muertas de la planta. 49

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características generales de los jales mineros	5
Tabla 2. Mecanismos de Fitorremediación (Modificado de ITCR, 2001; Paz et al., 2014)..	6
Tabla 3. Enzimas indicadoras de actividad microbiana (Tomado de Shukla y Varma, 2010)..	10
Tabla 4. Tratamientos establecidos para los experimentos en microcosmos y mesocosmos.	19
Tabla 5. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática y biomasa microbiana (C_{mic}) analizados en el modelo de RMANOVA, considerando el efecto “ <i>tiempo</i> ”.....	28
Tabla 6. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática específica (AEE) analizados en el modelo de RMANOVA, considerando el efecto “ <i>tiempo</i> ”.....	30
Tabla 7. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática y biomasa microbiana (C_{mic}) analizados en el modelo de ANOVA, considerando el efecto “ <i>planta</i> ”.....	33
Tabla 8. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática específica (AEE) analizados en el modelo de ANOVA, considerando el efecto “ <i>planta</i> ”.....	34
Tabla 9. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática y biomasa microbiana (C_{mic}) analizados en el modelo de ANOVA Factorial, considerando el efecto “ <i>planta-tratamiento</i> ”.....	36
Tabla 10. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática específica (AEE) analizados en el modelo de ANOVA Factorial considerando el efecto “ <i>planta-tratamiento</i> ”.....	38
Tabla 11. Medias (\pm error estándar) de las variables indicadoras de actividad microbiana.	62

LISTA DE ABREVIATURAS

C: Carbono	CHCl₃: Cloroformo	BG: β-glucosidasa
N: Nitrógeno	MUB: Buffer Universal Modificado	PFO: Polifenol oxidasa
P: Fósforo	pNP: p-nitrofenol	FOS: Fosfatasa
S: Azufre	ABTS: ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico	DHG: Deshidrogenasa
K: Potasio	MP: Metales pesados	MP: Metales pesados
Mg: Magnesio	CE: Conductividad eléctrica	CE: Conductividad eléctrica
Hg: Mercurio	CI: Cationes intercambiables	CI: Cationes intercambiables
Zn: Zinc	CI: Cationes intercambiables	J: Tratamiento control
Pb: Plomo	CO₂: Dióxido de carbono	C: Tratamiento con adición de composta
Cd: Cadmio	C_{mic}: Biomasa microbiana	B: Tratamiento con adición de biocarbón
Fe: Hierro	qCO₂: Coeficiente metabólico	M: Tratamiento con adición de composta y biocarbón
Cu: Cobre	C-CO₂: Mineralización potencial de C en forma de CO ₂	ANOVA: Análisis de Varianza
Mn: Manganeseo	AEE: Actividad enzimática específica	RMANOVA: ANOVA de medidas repetidas
K₂SO₄: Sulfato de potasio		
BaCl₂: Cloruro de Bario		
NaOH: Hidróxido de sodio		
HCl: Ácido clorhídrico		

RESUMEN

Los jales mineros, producto de la extracción de minerales, representan un riesgo de contaminación de matrices ambientales adyacentes (suelo, sedimentos, ríos, lagos etc.) por dispersión hídrica de los lixiviados o dispersión eólica del material. El pH ácido, baja estructuración, elevada concentración de metales pesados y bajas concentraciones de nutrientes impiden o limitan la actividad microbiana y por consiguiente el crecimiento vegetal. Uno de los retos para estos materiales es estimular la actividad microbiana que favorezca el crecimiento vegetal y así la estabilización de los jales. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la adición de enmiendas orgánicas y del crecimiento radicular de un pasto sobre la actividad microbiana en jales mineros. La metodología consistió en la adición de composta, biocarbón, y mezcla de ambas como enmiendas orgánicas a un jal proveniente de Taxco, Guerrero. Se establecieron experimentos simultáneos en microcosmos (*in vitro*) y en mesocosmos (macetas) durante 114 días, en el cual se sembró un pasto (*Lolium perenne*). Al inicio y al final de los experimentos se evaluaron indicadores de actividad microbiana como: mineralización de carbono, coeficiente metabólico (qCO_2), actividad enzimática de β -glucosidasa, fosfatasa, polifenol oxidasa, deshidrogenasa, biomasa microbiana y actividad enzimática específica. Los resultados mostraron que la actividad microbiana aumentó con la adición de enmiendas orgánicas con y sin planta en el orden siguiente: Composta > Mezcla > Biocarbón. En el tratamiento con adición de composta se observó una mayor mineralización de C, así como una mayor actividad enzimática y biomasa microbiana en presencia del pasto, mientras que el tratamiento con adición de biocarbón presentó semejanzas con el tratamiento control (es decir, los jales mineros sin adición de enmiendas orgánicas) en parámetros relacionados con la dinámica del C como la β -glucosidasa, deshidrogenasa y mineralización de C. Se concluye que la adición de composta, en conjunto con la siembra del pasto, es el escenario más conveniente para promover la actividad microbiana en los jales mineros, lo cual podría favorecer su estabilización.

Palabras clave: Jales mineros; Enmiendas orgánicas; Dinámica del carbono; Actividad microbiana.

SUMMARY

The mine tailings, by product of the extraction of minerals, represent a risk of contamination of adjacent environmental matrices (soil, sediments, lakes, rivers etc.) by water dispersion of the leachates or wind dispersion of the material. Acidic pH, lack structure, high concentration of heavy metals and low nutrient concentrations prevent or limit microbial activity, and consequently plant growth. One of the challenges for these materials is to stimulate the microbial activity that favors plant growth and thus the stabilization of the tailings. The objective of the present work was to determine the effect of the addition of organic amendments and the root growth of a grass on the microbial activity in mine tailings. The methodology consisted of the addition of compost, biochar, and mixture of both as organic amendments to a mine tailing from Taxco, Guerrero. Simultaneous experiments were established in microcosms (*in vitro*) and mesocosms (plant pot) during 114 days in which a grass (*Lolium perenne*) was planted. At the beginning and at the end of the experiments, indicators of microbial activity were evaluated such as: carbon mineralization, metabolic coefficient (qCO_2), enzymatic activity of β -glucosidase, phosphatase, polyphenol oxidase, dehydrogenase, microbial biomass and specific enzymatic activity. The results showed that the microbial activity increases with the addition of all the organic amendments with and without plant in the following order: Compost > Mixture > Biochar. In the treatment with addition of compost we observed a greater mineralization of C, as well as a greater enzymatic activity and microbial biomass in the presence of grass, while the treatment with addition of biochar showed similarities with the control treatment (*i.e.*, mine tailings without the addition of organic amendments) in parameters related to the dynamics of C such as β -glucosidase, dehydrogenase and mineralization of C. It is concluded that the addition of compost in conjunction with the sowing of the grass is the most convenient scenario to promote microbial activity in the mine tailings, which could favor its stabilization.

Keywords: Mine tailings; Organic amendments; Carbon dynamics; Microbial activity

1. INTRODUCCIÓN

La extracción y el aprovechamiento de minerales ha generado toneladas de residuos denominados jales mineros (Ramos y Siebe, 2006). Estos residuos son de tamaño de partícula equivalente a limos y arenas cuya composición química y características físicas son diversas (Medel et al., 2008). En general, los jales presentan pH ácido, poca estructura, elevada concentración de metales pesados (MP) y baja concentración de nutrientes esenciales (C, N, P, K, Mg, entre otros), lo que en conjunto ocasiona que exista una baja o nula actividad microbiana, además de que impiden o limitan el crecimiento vegetal (Moynahan et al., 2002; Hernández et al., 2009).

Los jales mineros representan un alto riesgo de contaminación de matrices ambientales adyacentes por dispersión hídrica y/o eólica (Romero et al., 2008; Pérez y Martín, 2015). Para mitigar la dispersión de los jales se deben emprender estrategias que incrementen la estabilidad de los taludes y que promuevan la agregación de partículas. Dentro de estas se encuentra el uso de enmiendas orgánicas que promueven la actividad microbiana, la disponibilidad de nutrientes y la formación de agregados, factores indispensables para que exista un adecuado crecimiento vegetal que impida o disminuya la dispersión de los contaminantes (Moynahan et al., 2002; Gómez, Ferreras y Toresani, 2006; Saison et al. 2006; de la Fuente et al., 2010).

2. MARCO TEÓRICO

2.1. LA MINERÍA COMO FUENTE DE CONTAMINACIÓN.

En México, la minería es una actividad económica muy importante que tiene presencia en 26 estados; los mayores números de proyectos se encuentran en Sonora: 202; Chihuahua: 117; Durango: 95; Sinaloa: 84; Zacatecas: 62; Jalisco: 54; Oaxaca: 33, y Guerrero: 33 (Cárdenas, 2013). Esta actividad representa el 65% de los residuos industriales que se producen en México (Mejía et al., 1999), ya que genera toneladas de residuos denominados jales mineros, los cuales son el producto de la trituración y molienda del mineral que se pretende extraer (NOM-141-SEMARNAT-2003; Ramos y Siebe, 2006).

Antiguamente y en especial durante los siglos XIX y XX, cuando no existía ningún tipo de legislación, se generaron millones de toneladas de residuos mineros en todo el territorio nacional, los cuales fueron acumulados y abandonados alrededor de las minas, en patios industriales y barrancas, formando depósitos superficiales denominados presas de jales. Actualmente, en muchos casos se desconocen sus condiciones y sus potenciales afectaciones al ambiente (Ramos y Siebe, 2006).

2.1.1. Características de los jales mineros y sus efectos en la actividad microbiana y el crecimiento vegetal.

Los jales mineros se caracterizan principalmente (tabla 1) por tener altas concentraciones (de entre 1-50 g/kg) de MP tales como: Zn, Hg, Pb, Cd, Fe, Cu, Mn, entre otros, con respecto a los límites establecidos en la NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004 (22-400 mg/kg en suelo agrícola/residencial y 260 – 5,100 mg/kg en suelo industrial), pH ácido, bajos contenidos de materia orgánica y nutrientes esenciales (C, N, P, K, Mg) (Ye et al., 2002; Mendez et al., 2007; Mendez y Maier, 2008). Los jales carecen de estructura y agregación; mantienen una baja comunidad microbiana heterotrófica y están dominados por bacterias autotróficas que oxidan el hierro y el azufre, lo que ocasiona que no exista vegetación y promueve la producción de lixiviados ácidos (Moynahan et al., 2002).

Tabla 1. Características generales de los jales mineros.

Características Físicas	Características Químicas	Características biológicas
<ul style="list-style-type: none"> •Tamaño de partícula que varía 2 μm hasta 0.2 mm. •Estructura desfavorable. •Baja capacidad de retención de humedad. 	<ul style="list-style-type: none"> •Altas concentraciones de MP. •Alto contenido de sulfuros. •pH ácido. 	<ul style="list-style-type: none"> •Bajo contenido de materia orgánica y nutrientes esenciales. •Baja actividad microbiana. •Poco o nulo crecimiento vegetativo.

(Ye et al., 2002; Mendez y Maier, 2008; Hernández y Padilla, 2010; Fellet et al., 2011).

La elevada concentración de MP en los jales mineros, tiene efectos directos en los microorganismos y en las plantas. Los procesos microbianos como la mineralización de carbono (C) y nitrógeno (N) y la descomposición de la materia orgánica son afectados por la presencia de MP (Moynahan et al., 2002; Dai et al., 2004). Específicamente, en los microorganismos tienen un efecto inhibitorio en la actividad enzimática y en la modificación de la estructura de la comunidad microbiana (Karaca et al., 2010). Estudios como los de Kandeler et al. (1995), Khan y Chang-Yong (1999), Efron et al. (2004), Liao y Huang (2005) y Malley et al. (2006) han reportado la reducción de la biomasa microbiana y la actividad de enzimas como la deshidrogenasa, fosfatasa, ureasa, proteasa y arilsulfatasa, y que esto depende de la concentración de los MP.

Los MP tienen efectos tóxicos en las plantas, cuya intensidad depende de la especie de planta, la concentración y el tipo de metal. Algunos de los efectos son: inhibición del crecimiento, aceleración de la senescencia, citotoxicidad, clorosis, daño oxidativo, inhibición de funciones metabólicas y alteración de la actividad enzimática. Lo anterior, junto con los efectos negativos en los microorganismos, dificulta el establecimiento y un posterior crecimiento vegetativo en los jales (Nagajyoti, Lee y Sreekanth, 2010; Hmid et al., 2015).

2.1.2. Dispersión de jales mineros.

Las características ya mencionadas en la tabla 1, asociadas a que los jales son acumulados a la intemperie, representan un gran riesgo ambiental por la dispersión al entorno a través de procesos erosivos hídricos y eólicos que ocasionan la contaminación de las matrices

ambientales adyacentes (Gutiérrez et al., 2007; Medel et al., 2008; Csavina, et al., 2011; Santos et al., 2013; Espino y Romero, 2014).

Se han reportado en el mundo diversos accidentes relacionados con la dispersión de jales mineros que tuvieron consecuencias en el ambiente y en la salud humana (UNEP, 2001). En México existen pocos estudios relacionados con la dispersión de jales, sin embargo, el caso reportado de Macías et al. (2015) en el que colapsó un conjunto de presas de jales en Tlalpujahua, Michoacán y murieron 300 personas es un claro ejemplo de la inadecuada gestión de los residuos y de los riesgos que representa la acumulación de los mismos. Otros ejemplos son los estudios realizados por Gutiérrez et al. (2007) y Santos et al. (2013) en los que reportan dispersión de jales y concentraciones de distintos MP en el entorno inmediato y no inmediato del lugar de almacenamiento de los mismos, de los cuales se desconocen los efectos ambientales.

2.1.3. Fitoestabilización de jales mineros e importancia de la actividad microbiana.

Una de las formas para disminuir la dispersión de los jales es su inmovilización usando organismos vivos como las plantas, a este tipo de técnicas se les conoce como fitorremediación. Los mecanismos de fitorremediación incluyen fitoestabilización, rizodegradación, fitoextracción, fitodegradación y fitovolatilización (tabla 2) (Trejo, 2002; ITCR, 2001).

Tabla 2. Mecanismos de Fitorremediación (Modificado de ITCR, 2001; Paz et al., 2014).

Mecanismo	Proceso	Descripción del proceso	Medio	Tipo de contaminantes	Tipos de plantas
Fitoestabilización	Contención	Limita la movilidad y biodisponibilidad de los contaminantes	Suelo, sedimentos, lodos	Metales pesados	Especies herbáceas, pastos, árboles, especies de humedales
Rizodegradación	Degradación	Degradación por microorganismos rizosféricos	Suelo, sedimentos, lodos, agua subterránea	Contaminantes orgánicos	Especies herbáceas, pastos, árboles, especies de humedales

Fitoacumulación/ Fitoextracción	Extracción y captura	Las plantas acumulan contaminantes en su biomasa	Suelo, sedimentos, lodos	Metales pesados y radionúclidos	Especies herbáceas, pastos, árboles, especies de humedales
Fitodegradación	Degradación	Degradación por enzimas secretadas por las plantas	Suelo, sedimentos, lodos, agua superficial y subterránea	Contaminantes orgánicos	Algas, especies herbáceas, pastos, árboles, especies de humedales
Fitovolatilización	Extracción del medio y liberación al aire	Conversión de contaminantes a su forma volátil, seguido de una liberación a la atmósfera	Suelo, sedimentos, lodos, agua subterránea	Solventes, Hg y As	Especies herbáceas, pastos, árboles, especies de humedales

En la fitoestabilización, las plantas crean una capa que limita la movilidad de los jales reduciendo los procesos de dispersión a través de erosión eólica e hídrica, además de que los MP pueden ser inmovilizados por adsorción o acumulación en la rizósfera (Mendez y Maier, 2008).

Para tener un establecimiento y desarrollo vegetativo como resultado de la fitoestabilización se requiere del desarrollo de estructura y del reciclaje de nutrientes, para lo cual se reconoce como parte esencial la presencia de una comunidad microbiana funcional (Moynahan et al., 2002). La importancia de este último factor radica en que los microorganismos influyen directamente en el reciclaje de nutrientes (Moynahan et al., 2002; Burns et al., 2013; Kujur y Kumar, 2014; Paul, 2014) y realizan la descomposición de la materia orgánica a través de su actividad metabólica, mediante la cual favorecen la disponibilidad de nutrientes para las plantas (Barrios, 2007).

Sin embargo, estos factores son afectados por las condiciones que presentan los jales. Por esta razón, la fitoestabilización debe ser “asistida” a través de la adición de enmiendas orgánicas que proporcionen nutrientes, estructura y que promuevan la actividad microbiana (de la Fuente et al., 2010; Gil et al., 2016). Algunas de las enmiendas usadas en la fitoestabilización son el biocarbón y la composta (Alvarenga et al., 2008; Beesley et al., 2011; Karami et al., 2011; Pardo et al., 2014; Paz et al., 2014; Rodríguez et al., 2014; Jones

et al., 2016; Taiwo et al., 2016). No obstante, la actividad microbiana es un factor que no ha sido ampliamente estudiado, razón por la cual en los siguientes apartados se recopila información sobre los indicadores que se usan para evaluarla y los efectos que tiene la adición de enmiendas orgánicas en la misma.

2.2. INDICADORES DE ACTIVIDAD MICROBIANA.

2.2.1. Mineralización e inmovilización de C.

El C es un elemento importante en la regulación de procesos que ocurren en los suelos y forma parte esencial de la materia orgánica. Su flujo dentro del suelo es regulado por procesos biológicos como la mineralización y la inmovilización, los cuales por ser sensibles a cambios fisicoquímicos son usados como indicadores de la actividad microbiana (Stevenson y Cole, 1999). La mineralización es la transformación de la materia orgánica a compuestos inorgánicos como el CO₂ (Guerreo et al., 2012), mientras que la inmovilización es el resultado de la asimilación del C (en las células de los microorganismos) que no ha sido utilizado para la obtención de energía o para la secreción microbiana de sustancias extracelulares (Stevenson y Cole, 1999).

Ambos procesos, dependen de las características de las distintas fuentes de C (naturales como la materia orgánica y externas como la adición de enmiendas orgánicas) en los suelos. Por ejemplo, se ha observado que la cantidad y tasa de liberación de CO₂, así como la inmovilización de C en la biomasa de los microorganismos depende del tipo de C potencialmente mineralizable e inmovilizable, es decir, si se trata de C lábil o estable (Guerreo et al., 2012). En distintos estudios se ha documentado que los compuestos orgánicos constituidos de un C lábil presentan mayor mineralización e inmovilización de C (García et al., 2000; Ros et al., 2006; Vinhal et al., 2010; Kayikcioglu, 2013) en comparación con los compuestos constituidos por C estable, en los cuales la mineralización e inmovilización es menor (Keith et al., 2011; Lehmann et al., 2011; Zimmerman et al., 2011; Luo et al., 2013; Prayogo et al., 2014; Zhang et al., 2014; Agegnehu et al., 2016) (figura 1).

Cabe resaltar que ambos procesos están en constante dinámica y balance, ya que mediante la mineralización se libera C a la atmósfera en forma de CO_2 , mientras que la inmovilización retiene transitoriamente el C en las células microbianas.

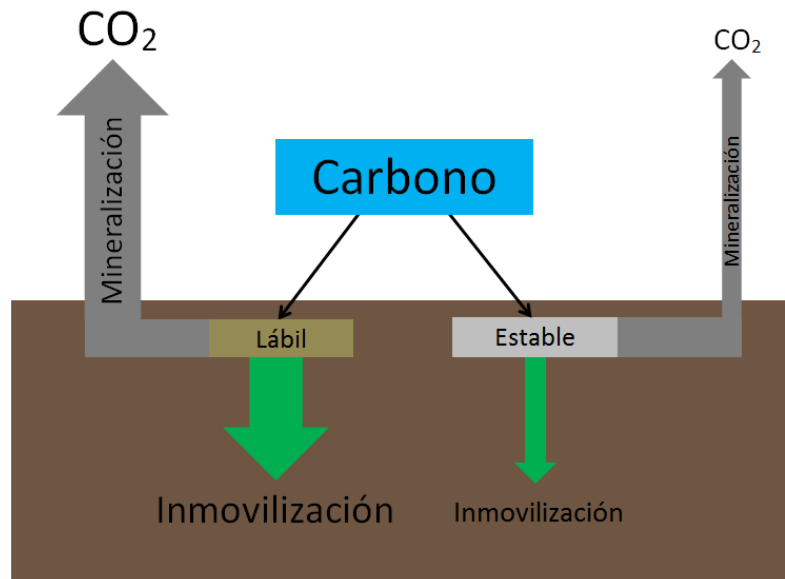


Figura 1. Modelo de mineralización e inmovilización de C en sistemas con presencia de C lábil y estable.

2.2.2. Actividad enzimática.

Una de las funciones de los microorganismos es el reciclaje de nutrientes a través de la descomposición de la materia orgánica. Este proceso biogeoquímico requiere de la síntesis intracelular de proteínas llamadas enzimas, que tienen un papel esencial en la catálisis de reacciones de hidrólisis y oxidación relacionadas con la degradación de compuestos orgánicos en el ambiente extracelular, las cuales reciben el nombre de exoenzimas (Shukla y Varma, 2010; Paul, 2014). La síntesis de enzimas es sensible a las condiciones fisicoquímicas del medio, como pH, humedad, temperatura, concentración de los nutrientes esenciales como C, N y P; por esta razón, las exoenzimas se usan como indicadores de la actividad microbiana (Caldwell, 2005; Shukla y Varma, 2010; Kutílek y Nielsen, 2015).

Existe una gran diversidad de enzimas (tabla 3) y cada una oxida o hidroliza componentes específicos. La β -glucosidasa es una enzima hidrolítica muy común y predominante en el suelo ya que está involucrada en la degradación de compuestos de C lábil (celobiosa,

celulosa, hemicelulosa), y su producto final es la glucosa, una importante fuente de energía para los microorganismos (Shukla y Varma, 2010); la polifenol oxidasa degrada compuestos de C orgánicos estables o recalcitrantes, como los compuestos aromáticos (Turner et al., 2002); la fosfatasa está relacionada con el ciclo del P ya que hidroliza ésteres y anhídridos de ácido fosfórico; por último, la deshidrogenasa es un reflejo de las actividades oxidativas de los microorganismos y está relacionada con la respiración y por tanto en el grado de actividad de los mismos (Acosta y Paolini, 2005; Henríquez et al., 2014).

Tabla 3. Enzimas indicadoras de actividad microbiana (Tomado de Shukla y Varma, 2010).

Enzima del suelo	Reacción enzimática	Indicador de actividad microbiana
Deshidrogenasa	Sistema de transporte de electrones (respiración)	Ciclo de C
β -glucosidasa	Hidrólisis de celobiosa	Ciclo de C
Celulasa	Hidrólisis de celulosa	Ciclo de C
Fenol oxidasa	Hidrólisis de lignina	Ciclo de C
Ureasa	Hidrolisis de urea	Ciclo de N
Amidasa	Mineralización de N	Ciclo de N
Fosfatasa	Liberación de PO_4^-	Ciclo de P
Arilsulfatasa	Liberación de SO_4^-	Ciclo de S

2.2.3. Coeficiente metabólico (qCO_2) y actividad enzimática específica (AEE).

La secreción extracelular de enzimas, así como la mineralización son usadas como indicadores por su sensibilidad y rápida respuesta a los cambios fisicoquímicos del medio. Cada uno de estos procesos requiere de la inversión de energía metabólica para su realización, y esta energía debe ser usada eficientemente (Kutílek y Nielsen, 2015). Por ejemplo, la síntesis de enzimas se realiza solamente cuando es absolutamente necesario para los microorganismos (Caldwell, 2005; Shukla y Varma, 2010; Kutílek y Nielsen, 2015).

Por esta razón surge la necesidad de utilizar indicadores enfocados a entender el uso eficiente de la energía por parte de los microorganismos considerando otros parámetros como la biomasa microbiana. Estos indicadores son el coeficiente metabólico (qCO_2)

(Wardle y Ghani, 1995) y la actividad enzimática específica (AEE) (Raiesi y Beheshti, 2014), los cuales se obtienen de dividir la producción de CO₂ y de enzimas, respectivamente, entre la biomasa microbiana. Ambos indicadores permiten entender de una manera más completa la eficiencia en el uso de energía y/o recursos por parte la comunidad microbiana (Chávez-Vergara et al., 2016) ya que son una medida de la energía necesaria para mantener la actividad metabólica (refiriéndose a la producción de CO₂ y a la síntesis de enzimas) en relación con la energía necesaria para la síntesis de biomasa. Específicamente, valores altos indican poca eficiencia en el uso de energía y viceversa (Kayikcioglu, 2013; Raiesi y Beheshti, 2014; Chávez-Vergara et al., 2016).

Cabe resaltar que algunos autores como Yan et al. (2003) y Raiesi y Beheshti (2014) mencionan que los microorganismos del suelo invierten más energía en el mantenimiento de la actividad metabólica (producción de CO₂ y enzimas) en vez de aumentar biomasa a medida que aumenta el estrés en el medio.

2.3. USO DE ENMIENDAS ORGÁNICAS COMO MEJORADOR DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA.

2.3.1. Biocarbón: características y efectos en la actividad microbiana.

El biocarbón es un carbón vegetal producto de la pirólisis de materiales orgánicos (figura 2) (Lehmann y Joseph, 2015) y es adicionado al suelo porque es capaz de modificar las propiedades físicas, químicas y biológicas. Se ha observado que modifica la estructura, densidad y porosidad del suelo; promueve el secuestro de carbono, la retención de agua, la disponibilidad de nutrientes (Glaser, Lehmann y Zech, 2002) y amortigua el pH ácido (Sohi, et al., 2010). También se ha observado que modifica la comunidad microbiana (Pietikäinen et al., 2000), proporciona un hábitat adecuado, adsorbe toxinas y promueve el crecimiento de las raíces (Lehmann y Joseph, 2015). Sin embargo, también hay estudios que muestran que disminuye el crecimiento de micorrizas arbusculares, el reciclaje de nutrientes y la descomposición de la materia orgánica (Lehmann et al., 2011).

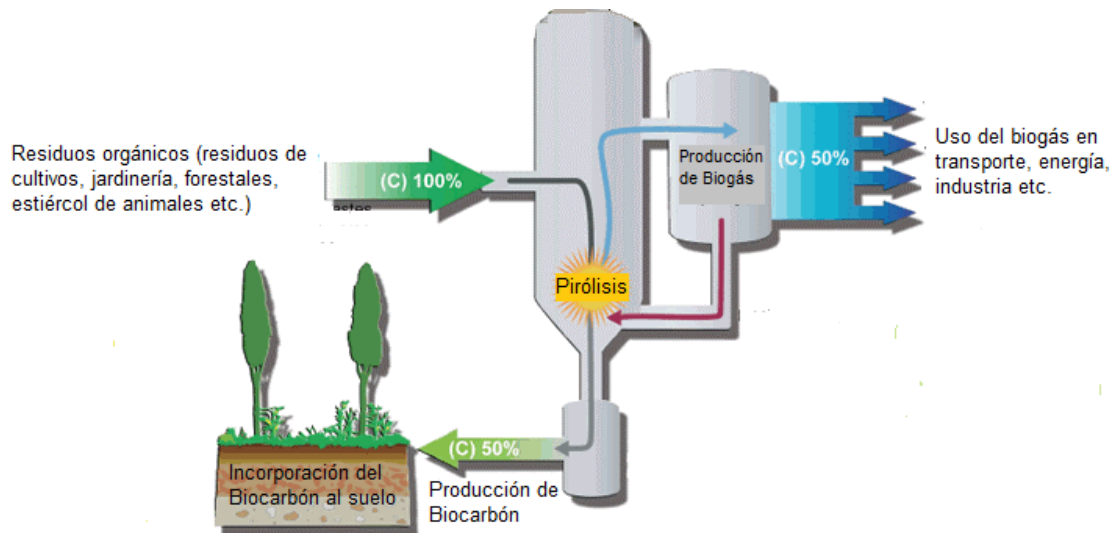


Figura 2. Proceso de generación de biocarbón (Modificado de: International Biochar Initiative, 2017).

Existen pocos estudios para evaluar la influencia del biocarbón en los microorganismos, y los estudios existentes han demostrado que la biomasa microbiana puede o no ser modificada por la adición de biocarbón. Se han reportado aumentos de la biomasa con la adición de biocarbón con una temperatura de pirólisis menor a 450°C (Chan et al., 2008; Beesley et al., 2011); también se han reportado disminuciones (Gul et al., 2014), y casos en los que no hay aumentos o disminuciones significativas (Paz et al., 2012; Ameloot et al., 2013). Se ha reportado que esto se puede deber a la técnica usada para la cuantificación de la biomasa microbiana, específicamente en la que se usa como solución extractora al K_2SO_4 (Durenkamp et al., 2010). En el caso de la mineralización de carbono, Paz et al. (2012) y Ameloot et al. (2013) reportan disminuciones significativas en la producción de CO_2 y en el coeficiente metabólico (qCO_2) en los tratamientos con adición de biocarbón.

La temperatura de pirólisis del biocarbón es importante en la actividad de enzimas relacionadas con el ciclo del C y P. En biocarbones pirolizados a temperaturas mayores a 400°C se reportan aumentos significativos en enzimas relacionadas con la degradación de compuestos de carbono estable o recalcitrante como la α -glucosidasa, β -D-celobiohidrolasa, y β -N-acetilglucosaminidasa, así como disminuciones en enzimas relacionadas con la degradación de compuestos de carbono lábil y con la mineralización del fósforo como la β -glucosidasa y la fosfatasa (Paz et al. 2012; Foster et al. 2016).

En otros estudios como el de Bailey et al. (2011), la adición de biocarbón no tuvo efectos claros ya que se reportaron valores diferentes en las enzimas analizadas (β -glucosidasa, β -N-acetilglucosaminidasa, lipasa y leucina aminopeptidasa) y los autores lo atribuyen a que la determinación de la actividad enzimática depende de la interacción física entre el biocarbón y el sustrato, que impide una cuantificación adecuada.

El efecto de la temperatura de pirólisis del biocarbón se reporta en enzimas como la deshidrogenasa. Por ejemplo, Ameloot et al. (2013) reporta un aumento significativo en el tratamiento con adición de biocarbón hecho a 350°C y una disminución significativa en el biocarbón hecho a 700 °C; sin embargo, Paz et al. (2012), reportó un aumento significativo en la misma enzima con un biocarbón producido a 600°C.

2.3.1.1. Actividad microbiana en jales con adición de biocarbón.

El biocarbón es una de las enmiendas orgánicas que ha sido propuesta para remediar los jales mineros o suelos contaminados ya que amortigua el pH ácido, reduce los elementos tóxicos y promueve el establecimiento de plantas (Fellet et al., 2010; Kelly et al., 2014; Paz et al., 2014; Hmid et al., 2015). Sin embargo, existen pocos estudios de sus efectos en la actividad microbiana en jales mineros. Cui et al. (2013) evaluó lo efectos de la adición de biocarbón de paja de trigo (450°C) en la actividad microbiana de suelos contaminados con MP y encontró un aumento significativo en enzimas como la celulasa, sacarasa y fosfatasa.

2.3.2. Composta: características y efectos en la actividad microbiana.

La composta es un abono orgánico formado por la degradación microbiana aerobia de distintos residuos orgánicos (figura 3) (SAGARPA, s.f.). La aplicación de una enmienda orgánica como la composta tiene efectos positivos en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, como la regulación de la temperatura, la retención de humedad, estructura e incremento de la disponibilidad de nutrientes (Cambardella, Richard y Russell, 2003; Araujo et al., 2009), las cuales a su vez modifican positivamente la actividad microbiana (Saison et al., 2006; Fini, Degl'Innocenti, y Ferrini, 2016).

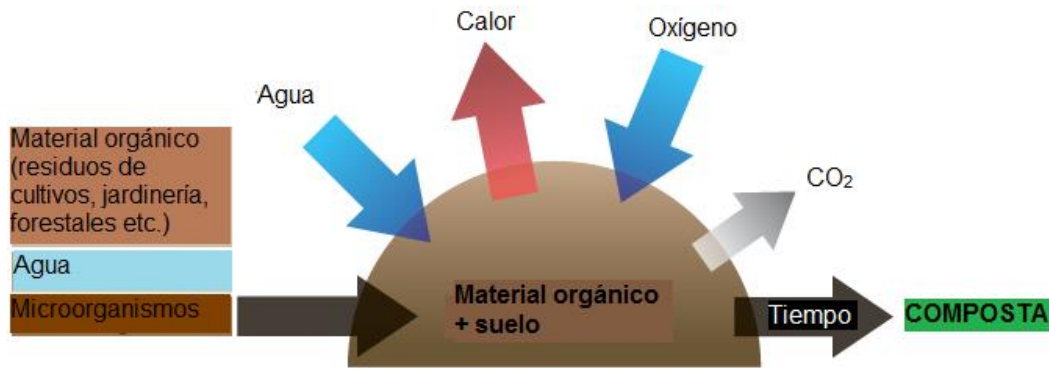


Figura 3. Proceso de generación de composta (Modificado de Farm to Table, 2017).

Algunos estudios han encontrado que la adición de composta al suelo aumenta significativamente la biomasa microbiana y la mineralización de C (Vinhal et al., 2010; Kayikcioglu, 2013; Lata y Marschner, 2013); disminuye el cociente metabólico (Vinhal et al., 2010) y aumenta en forma significativa la actividad de distintas enzimas (deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa ácida y alcalina, celulasa, catalasa, arilsulfatasa y ureasa) (Albiach et al., 2000; García et al., 2000; Crecchio et al., 2001 y 2004; Ros et al., 2006; Nayak et al., 2007; Vinhal et al., 2010; Kayikcioglu, 2013).

2.3.2.1. Actividad microbiana en jales con adición de composta.

En comparación con el biocarbón, se han realizado más estudios de los efectos de la adición de composta sobre la actividad microbiana en jales mineros o suelos contaminados con jales mineros. En todos los estudios se colectaron muestras de jales mineros (Kohler et al., 2015), suelos contaminados con jales (de Mora et al., 2004; Alvarenga, de Varennes y Cunha-Queda, 2014) o suelos desarrollados sobre minas abandonadas (Alvarenga et al., 2008; de Varennes et al., 2010); se adicionaron compostas hechas de residuos urbanos y de jardinería, y se sembraron especies arbustivas (*Anthyllis cytisoides*, *Erica australis* y *Dactylis glomerata*), herbáceas (*Agrostis stolonifera*) y pastos (*Lolium perenne*). En todos los casos la biomasa aérea de las plantas aumentó, así como la actividad de la deshidrogenasa, β -glucosidasa, arilsulfatasa, fosfatasa ácida, celulasa, proteasa y ureasa. Estos estudios confirman que el uso de compostas promueve el establecimiento y crecimiento de plantas y la actividad microbiana.

3. JUSTIFICACIÓN

En este trabajo se analizan los efectos que tiene la adición de enmiendas orgánicas en la actividad microbiana en jales derivados de la actividad minera. Ésta última es una de las principales fuentes de contaminación por MP, los cuales alteran las propiedades fisicoquímicas, la actividad microbiana y el crecimiento vegetal (Kandeler et al., 1996; Efron et al., 2004; Karaca et al., 2010).

Estos sustratos presentan altas concentraciones de MP, baja capacidad de retención de humedad, pH ácido, bajas concentraciones de nutrientes, y en general una baja a nula actividad microbiana, que en conjunto pueden aumentar el riesgo de contaminación de otras matrices ambientales a través de la erosión (Mendez y Maier, 2008; Csavina et al., 2011; Gil et al., 2016).

Por esta razón, es importante comprender la respuesta de la actividad microbiana a través del uso de enmiendas orgánicas, las cuales son fundamentales para la formación de agregados y el reciclaje de nutrientes, dos factores indispensables para un buen desarrollo vegetativo que impida o disminuya la dispersión de los jales mineros.

Por último, la información generada podrá ayudar en la implementación de nuevas estrategias de remediación *in situ* de jales mineros, además de que la investigación proporcionará datos y evidencia científica sobre los efectos de las enmiendas orgánicas con diferentes propiedades sobre la actividad microbiana.

4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS

Objetivo general

- 1) Determinar el efecto de la adición de composta, biocarbón y la mezcla de estos a un jal derivado de actividades mineras sobre la actividad microbiana.

PREGUNTA 1.

¿Someter a los tratamientos (control, composta, biocarbón y mezcla) a un periodo de incubación en el que se mejoran las condiciones de temperatura y humedad modifica la actividad microbiana?

- 2) *Objetivo:* Determinar si un cambio en las condiciones de temperatura y humedad durante un periodo de tiempo modifica la actividad microbiana en los tratamientos.

PREGUNTA 2.

¿La incorporación de una planta al jal minero modifica la actividad microbiana?

- 3) *Objetivo:* Determinar si el crecimiento radicular de un pasto promueve la actividad microbiana sin la necesidad de la adición de enmiendas orgánicas.

PREGUNTA 3.

¿Existen diferencias en la actividad microbiana cuando se considera la ausencia y presencia de la planta en los tratamientos con adición de enmiendas orgánicas?

- 4) *Objetivo:* Determinar si existen diferencias en la actividad microbiana considerando la interacción de los tratamientos con respecto a la presencia o ausencia del pasto.

5. HIPÓTESIS

Hipótesis general

- 1) La adición de enmiendas orgánicas mejorará las condiciones fisicoquímicas en los jales mineros, lo cual estimulará la actividad microbiana en los mismos.

Hipótesis particulares

- 2) El cambio en las condiciones de temperatura y humedad de la incubación estimulará la actividad microbiana en los tratamientos.
- 3) El establecimiento de la planta a través del desarrollo de su rizósfera, tendrá un efecto positivo sobre la actividad microbiana en los jales mineros, la cual será mayor en los tratamientos con adición de enmiendas orgánicas.
- 4) La actividad microbiana será mayor con la adición de la composta en comparación con el biocarbón, debido a que se compone de sustancias más lábiles y fácilmente utilizables por los microorganismos.
- 5) En la mezcla de enmiendas la actividad microbiana será mayor, debido a que se suman las propiedades de ambas enmiendas orgánicas.

6. METODOLOGÍA

6.1. ÁREA DE ESTUDIO.

Taxco de Alarcón (figura 4) es un municipio que se localiza al norte del estado de Guerrero entre los paralelos $18^{\circ} 21'$ y $18^{\circ} 41'$ de latitud norte y los meridianos $99^{\circ} 25'$ y $99^{\circ} 47'$ de longitud oeste; tiene una altitud entre 700 y 2,600 m. La temperatura varía de $12 - 26^{\circ}\text{C}$; presenta un rango de precipitación de 800 – 1,500 mm. El clima es templado subhúmedo con lluvias en verano; ocupa una superficie de 652,725 km² y la vegetación que prevalece es el bosque tropical caducifolio (INEGI, 2009; SEDESOL, 2013; Gómez et al., 2010).

Taxco de Alarcón se caracteriza por la actividad minera, específicamente La Unidad Minera de Taxco (UMT) se ha distinguido históricamente por su producción de plata (Ag) y se convirtió en un importante productor de zinc (Zn) y plomo (Pb) a partir del siglo XX (Gómez et al., 2010).

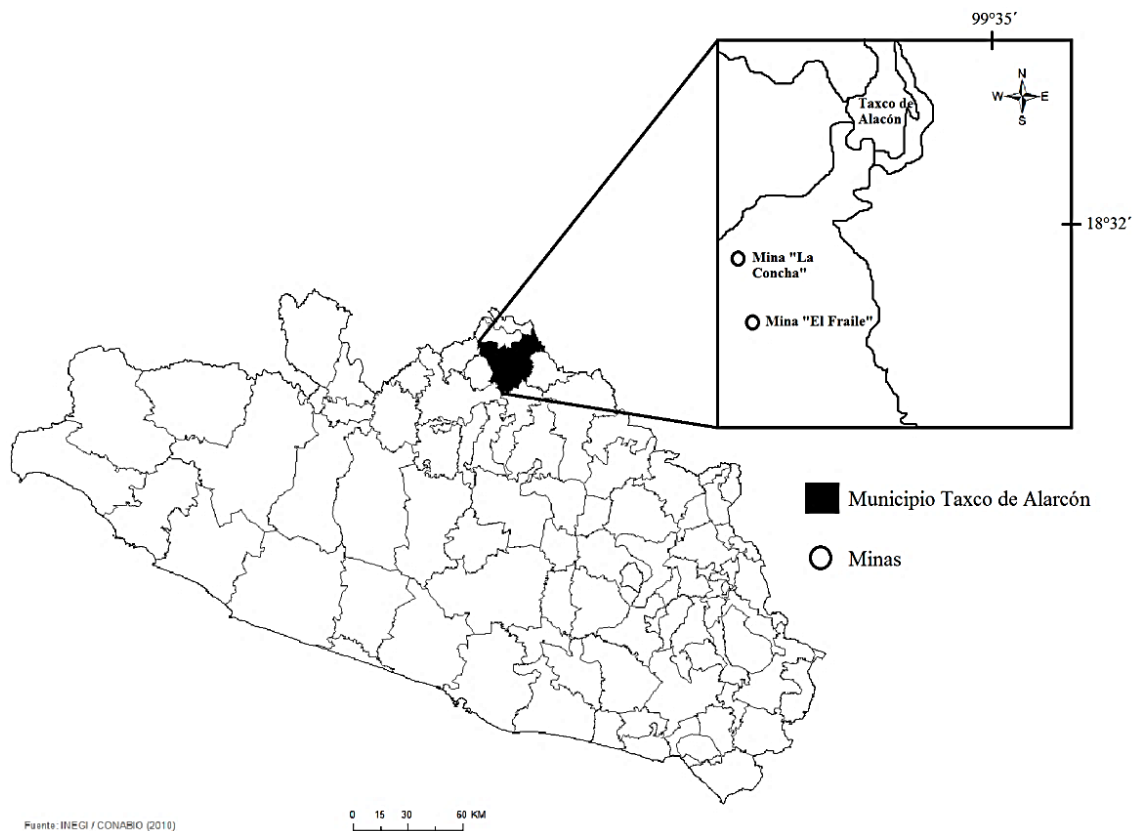


Figura 4. Ubicación de la mina “El Fraile” en el municipio Taxco de Alarcón del estado de Guerrero (Modificado de: Gómez et al., 2010).

6.2. COLECTA DE MUESTRAS.

El sitio de muestreo fue la mina inactiva “El Fraile” localizada aproximadamente a 12 km al suroeste de Taxco de Alarcón (figura 4), la cual contiene desechos mineros originados entre 1940 y 1970 como resultado de la explotación de Ag, Zn y Pb (Talavera, 2006).

En enero del 2016 se colectaron aproximadamente 30 kg de muestra de jales mineros de la mina “El Fraile”, los cuales fueron proporcionados por la Mtra. Fabiola Vega, del Instituto de Geología, UNAM.

6.3. EXPERIMENTO DE ADICIÓN DE ENMIENDAS ORGÁNICAS.

Se estableció un experimento microcosmos (*in vitro*) y otro en mesocosmos (macetas) para evaluar el efecto de la adición de enmiendas orgánicas sobre la actividad microbiana en los jales mineros. Los tratamientos fueron los siguientes: en el primer tratamiento se usó una composta proveniente de la Planta Bordo Poniente; en el segundo tratamiento se usó biocarbón de fibra de coco inoculado con orina procedente de la planta de gasificación Green To Energy (G2E) ubicada en Ciudad Universitaria, UNAM; el tercer tratamiento consistió en una mezcla de ambas enmiendas a un 50%; finalmente las macetas control se dejaron sólo con jal, es decir sin ningún tipo de enmienda (tabla 4).

Tabla 4. Tratamientos establecidos para los experimentos en microcosmos y mesocosmos.

Tratamiento	Residuos mineros	Enmienda orgánica
Control (J)	100%	0%
Composta (C)	96%	4%
Biocarbón (B)	96%	4%
Mezcla de composta y biocarbón (M)	96%	2% composta y 2% biocarbón

6.3.1. Experimento en microcosmos (*in vitro*).

Dentro de frascos herméticos se colocaron 75 g de cada uno de los tratamientos con 5 réplicas cada uno (tabla 4) en tubos de cloruro de polivinilo (PVC) de 5 cm de diámetro adaptados con una malla en uno de los extremos. Posteriormente, los tratamientos fueron

llevados a capacidad de campo por capilaridad y se incubaron a 25°C en oscuridad durante 108 días. El experimento funcionó como el tratamiento sin planta y se llevó a cabo en el Laboratorio de Biogeoquímica del Instituto de Geología, UNAM.

6.3.2. Experimento en mesocosmos (macetas).

Se colocó 1 kg de las mezclas enlistadas en la tabla 4 en macetas (con 5 réplicas cada uno) y se sembraron en ellas 2 g de semillas de pasto Ray Grass (*Lolium perenne*). Todas las macetas se mantuvieron dentro del Invernadero Sistematizado del Instituto de Geología de la UNAM a una temperatura de 25°C y a 80 % de su capacidad máxima de retención de humedad, esta última controlada en forma gravimétrica durante 121 días.

6.4. ANÁLISIS DE LABORATORIO.

6.4.1. Caracterización de las enmiendas orgánicas.

La caracterización de ambas enmiendas consistió en la determinación de la humedad gravimétrica, para lo cual fue pesada la muestra en húmedo y se secó a 105° C llevándola a peso constante. La humedad se calculó mediante la resta del peso húmedo menos el peso seco, siguiendo el método de Delgadillo y Martínez (2010). El pH y conductividad eléctrica (CE) se midieron usando un potenciómetro Conductronic modelo PH 120 y un conductímetro HANNA modelo HI4321, respectivamente. Los cationes intercambiables (CI) se obtuvieron a partir de una extracción con acetato de amonio 1N a un pH=7 y se cuantificaron en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer 3110 para el caso del calcio (Ca^{2+}) y el magnesio (Mg^{2+}), y mediante flamometría para el sodio (Na^+) y el potasio (K^+) con el flamómetro Sherwood modelo 360 según el método propuesto por Shimada y Sánchez (2007). Por último, se analizó el carbono (C) y nitrógeno (N) totales utilizando un analizador elemental CNHS/O Perkin Elmer 2400 serie II, en el modo CHB.

6.4.2. Actividad microbiana.

6.4.2.1. Mineralización potencial de C.

Se colocó dentro de frascos herméticos 75 g de muestra de los tratamientos de la tabla 4 (con 5 réplicas cada uno) junto con un vial de vidrio con 10 ml de una solución alcalina de

NaOH 0.5 N (a la que se denomina trampa de CO₂). El vial con NaOH fue reemplazado cada 4 días, luego cada semana y finalmente cada 15 días, mientras que al NaOH que se extrajo se le adicionó 5 ml de BaCl₂ 1N para precipitar el CO₂ en forma de Na₂CO₃. La determinación de la captura de CO₂ se hizo a través de titulaciones del NaOH extraído usando HCl 0.5 N, y fenolftaleína al 1% como indicador. Por último la concentración de C en forma de CO₂ se determinó usando la fórmula 1.

$$\left[\frac{\left(\frac{(HCl_{Blanco} - HCl_{gastado})(N_{NaOH})}{2 \text{ mol } Na_2CO_3} \right) (MA_{Carbono})}{g_{suelo}} \right] 1,000,000 = \frac{\mu g C}{g_{suelo}} \dots \text{Fórmula 1}$$

Donde N es la normalidad del NaOH y MA es la masa atómica del carbono.

6.4.2.2. Inmovilización de C en biomasa microbiana (C_{mic}).

El C_{mic} se midió mediante el método de fumigación y extracción de Vance et al. (1987) y modificado por Chávez-Vergara et al. (2016), que consiste en pesar 10 g de suelo por duplicado de cada tratamiento en vasos de precipitados y colocándolos en desecadores. La mitad de las muestras fueron fumigadas al vacío con cloroformo (CHCl₃) durante 30 min y las restantes se usaron como control.

Las muestras fumigadas y no fumigadas fueron incubadas en oscuridad a 25°C durante 24 hrs. Para la extracción del C_{mic} se adicionó 40 ml de K₂SO₄ 0.5 N, y se agitaron por 30 min. Finalmente, la muestra se filtró con papel Whatman No. 42. La determinación de la concentración de C se realizó en un analizador de carbono marca Shimadzu perteneciente al Laboratorio Universitario de Nanotecnología Ambiental (LUNA) del CCADET, UNAM.

La concentración final de C_{mic} (expresada en $\mu g C g^{-1}$) se determinó a partir de la diferencia de la concentración de C_{mic} en las muestras fumigadas menos las no fumigadas y divididas entre el coeficiente de extracción 0.45 (Joergensen y Mueller, 1996).

6.4.2.3. Actividad enzimática.

6.4.2.3.1. Enzimas β -glucosidasa (BG), fosfatasa (FOS) y polifenol oxidasa (PFO).

La actividad enzimática se determinó mediante mediciones colorimétricas de liberación de p-nitrofenol (pNP) en el caso de la BG y FOS; y de la reducción de tirosina en el caso de la PFO.

Para la preparación de la muestra se colocaron 2 g de suelo de cada tratamiento en tubos Falcon de 50 ml y se adicionaron 30 ml de una solución de Buffer Universal Modificado (MUB) a un pH de 6. Los tubos se agitaron durante 15 min a 120 rpm. Posteriormente se tomaron 3 alícuotas de 0.67 ml del extracto y se colocaron en tubos Eppendorf junto con 0.67 ml del sustrato de cada enzima (pNP - glucopiranosido para BG, pNP - fosfato para FOS y ABTS para PFO).

Simultáneamente, se preparó el control de muestra y el control de sustrato; el primero se hizo colocando en tubos Eppendorf 0.67 ml del extracto y 0.67 ml del MUB, y el segundo colocando la misma cantidad del sustrato de la enzima y el MUB.

Todos los tubos Eppendorf se cerraron e incubaron a 25°C durante 2 hrs. A continuación se centrifugaron a 10,000 rpm durante 2 min y se transfirió una alícuota de 0.75 ml del sobrenadante a tubos Falcon de 15 ml. Posteriormente se adicionaron 0.075 ml de NaOH 1N y 3 ml de agua desionizada para detener la reacción. Este procedimiento se siguió en el caso de BG y FOS.

Los tubos Falcon de 15 ml se agitaron en un vórtex durante unos segundos. La absorbancia se determinó en un espectrofotómetro Thermo Spectronic modelo 4001/4. La absorbancia se ajustó a 410 nm para BG y FOS, y a 460 nm para PFO. La concentración de enzimas fue expresada en unidades de $\text{mmol g}^{-1} \text{h}^{-1}$.

6.4.2.3.2. Enzima deshidrogenasa (DHG).

El método para la determinación de deshidrogenasa se basa en la estimación de la tasa de reducción de cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) a trifenilformazán (TPF) posterior a la incubación. Se pesaron 2 g de suelo de cada tratamiento en tubos Falcon de 15 ml forrados con aluminio para impedir el paso de la luz, para luego adicionar 2 ml de una solución de TTC para suelos arenosos con baja concentración de materia orgánica.

Simultáneamente, se prepararon los controles de muestra pesando 2 g de suelo y se adicionaron 2 ml de Buffer-Tris ajustado a un pH de 7.8 con HCl (para suelos con pH menor a 6).

Los tubos se incubaron en agitación a 25°C durante 24 hrs, para posteriormente adicionar 8 ml de acetona y agitarse durante 2 hrs. Luego los tubos se centrifugaron a 3,000 rpm por 2 min. La lectura de la absorbancia se realizó en el sobrenadante con un espectrofotómetro Thermo Spectronic modelo 4001/4 ajustándola a 560 nm. La concentración de enzimas fue expresada en unidades de $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{d}^{-1}$.

6.4.2.4. Coeficiente metabólico ($q\text{CO}_2$) y actividad enzimática específica (AEE).

El $q\text{CO}_2$ y la AEE se calcularon usando la concentración de cada una de las enzimas, la concentración de biomasa microbiana y la producción de C-CO₂ de cada tratamiento. El $q\text{CO}_2$ se estimó siguiendo la fórmula 2 y la AEE según la fórmula 3.

$$q\text{CO}_2 = \frac{A}{B} \quad \dots \text{Fórmula 2}$$

$$\text{AEE} = \frac{C}{B} \quad \dots \text{Fórmula 3}$$

Donde A es la producción de C-CO₂ de cada tratamiento expresada en $\mu\text{g C g}^{-1}$; B es el valor de biomasa microbiana (C_{mic}) expresado en $\mu\text{g C g}^{-1}$ y C es cualquier enzima (BG, FOS, PFO y DHG).

6.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

Para todos los datos se realizaron pruebas de normalidad (Prueba de Shapiro-Wilk) y de homocedasticidad (Prueba de Levene), así como una prueba de esfericidad Mauchly en el caso de los análisis de varianza de medidas repetidas (RMANOVA).

En caso de que alguna variable no presentara homocedasticidad y normalidad se realizó una transformación de los datos a logaritmo natural (ln).

Todos los análisis se realizaron en el programa Statistica 13 StatSoft.

Mineralización potencial de C en los tratamientos. Se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para los datos de C-CO₂ generados durante el experimento en microcosmos, para verificar diferencias significativas en la producción de C-CO₂ entre cada uno de los tratamientos.

En caso de presentar diferencias se realizó un análisis post-hoc Tukey HSD.

Actividad enzimática inicio y término del experimento en microcosmos. Para determinar si había diferencias significativas entre los tratamientos al inicio y término de la incubación se realizó un análisis de varianza de medidas repetidas (RMANOVA), teniendo como factor “entre” a los tratamientos con cuatro niveles (composta, biocarbón, mezcla y control), y como factor “dentro” el tiempo de incubación con dos niveles, es decir, el tiempo inicial y final del experimento.

En caso de presentar diferencias se realizó un análisis post-hoc Duncan.

Actividad enzimática considerando el efecto planta. Para los datos de actividad enzimática del tratamiento control en el experimento en microcosmos y en mesocosmos se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) teniendo como factor la presencia y ausencia de planta (pasto). Esto con el objetivo de verificar si existía un efecto positivo en el jal minero por la presencia de la planta y no de la adición de enmiendas orgánicas.

En caso de presentar diferencias se realizó un análisis post-hoc Duncan.

Actividad enzimática considerando el efecto planta y tratamientos. Con el objetivo de determinar qué factor es determinante para la actividad enzimática, es decir, las enmiendas, la presencia o ausencia de planta o la interacción de ambas se realizó un análisis de varianzas factorial (ANOVA Factorial) considerando los datos de los experimentos en microcosmos y mesocosmos, considerando como primer factor los “tratamientos” con 4 niveles (composta, biocarbón, mezcla y control) y como segundo factor la presencia o ausencia de planta (pasto).

En caso de presentar diferencias significativas ($p < 0.05$) se realizó un análisis post-hoc Duncan.

7. RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados de las variables analizadas y los análisis estadísticos a los que fueron sometidos. Lo anterior será presentado de acuerdo con las tres preguntas planteadas: 1) ¿Someter a los tratamientos a un periodo de incubación modifica la actividad microbiana? 2) ¿La incorporación de una planta al jal modifica la actividad microbiana?, y 3) ¿Existen diferencias en la actividad microbiana cuando se considera la ausencia y presencia de la planta en los tratamientos con adición de envidas orgánicas? Las abreviaturas empleadas en las secciones siguientes son: Control= “J”, Composta= “C”, Biocarbón= “B” y Mezcla= “M”, Mineralización potencial de carbono= “C-CO₂”, β-glucosidasa= “BG”, Fosfatasa= “FOS”, Polifenol oxidasa= “PFO”, Deshidrogenasa= “DHG” y Biomasa microbiana= “C_{mic}”.

7.1. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas y del cambio de condiciones sobre la actividad microbiana en jales mineros.

7.1.1. Biomasa microbiana (C_{mic}).

Al inicio de la incubación no hubo diferencias en la biomasa microbiana (figura 5 y tabla 5) entre los tratamientos. En el análisis estadístico resultó significativa la interacción entre los tratamientos y el tiempo. Se observó que al final de la incubación el C_{mic} aumentó en los tratamientos con enmiendas orgánicas, pero sólo de forma significativa para C (1.8 veces) y M (1.7 veces), los cuales fueron diferentes de J y B, quienes presentaron los valores más bajos.

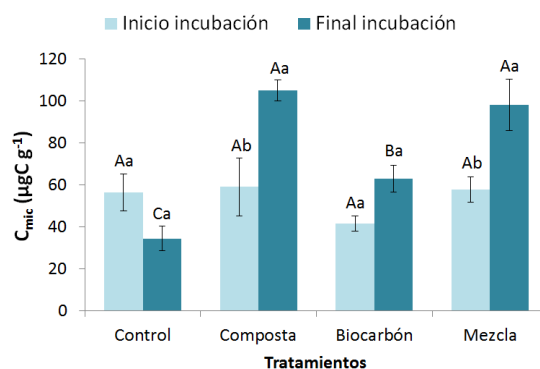


Figura 5. Media (± error estándar) de la biomasa microbiana (C_{mic}) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas (p<0.05) en el factor “tiempo” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos.

7.1.2. Actividad enzimática.

En general no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos al inicio de la incubación, con excepción de la FOS en la que *J* fue hasta >2 veces mayor que en los tratamientos con enmiendas orgánicas.

La BG (figura 6) presentó diferencias significativas entre la interacción de los tratamientos con el tiempo (tabla 5). Se observó que al final de la incubación aumentó de forma significativa para *J* y *B* (>2 veces) mientras que los valores en *C* y *M* se mantuvieron iguales; *J* presentó los valores más altos (entre 2 - 4.5 veces mayor) y fue diferente de los tratamientos con enmiendas. En éstos últimos *C* y *B* fueron diferentes entre ellos, pero no lo fueron con respecto a *M*.

La FOS (figura 7) presentó diferencias en los tratamientos y el tiempo, pero no en la interacción entre éstos (tabla 5). La concentración de FOS disminuyó al final de la incubación en todos los tratamientos a excepción de *M*, y ésta disminución sólo fue significativa en *J*, el cual además presentó los valores más altos en comparación con *B*, por lo que resultaron ser diferentes entre ellos, pero ambos no fueron diferentes de *C* y *M*.

Se observó interacción significativa entre los tratamientos y el tiempo para la PFO (figura 8 y tabla 5). Al final de la incubación hay un aumento significativo en *C* (>3 veces) y *B* (4 veces) los cuales fueron diferentes de *J* y *M* ya que éstos presentaron los valores más bajos y se mantuvieron sin cambios.

La DHG (figura 9) presentó diferencias en los tratamientos y el tiempo, pero no en la interacción entre éstos (tabla 5). La actividad de esta enzima no presentó un aumento significativo en los tratamientos al final de la incubación, sin embargo, *C* y *M* presentaron los valores más altos (1.2 veces) con respecto a *J*, el cual que presentó los menores valores, mientras que *B* no se diferenció de ningún tratamiento.

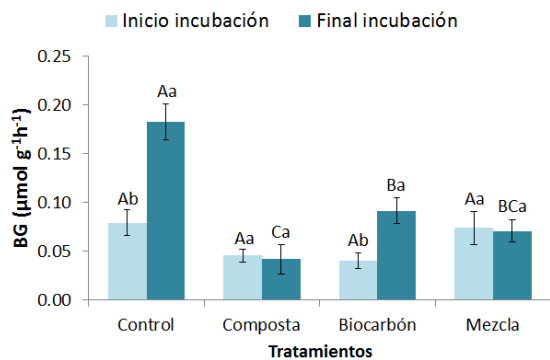


Figura 6. Media (\pm error estándar) de la enzima β -glucosidasa (BG) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

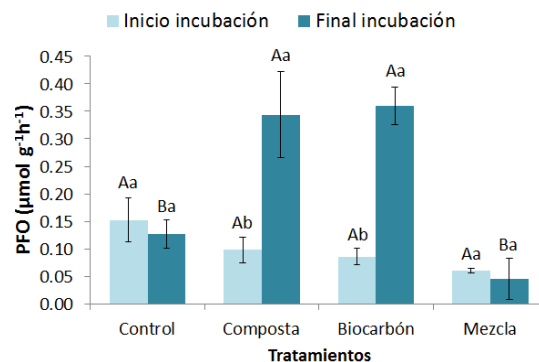


Figura 8. Media (\pm error estándar) de la enzima polifenol oxidasa (PFO) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

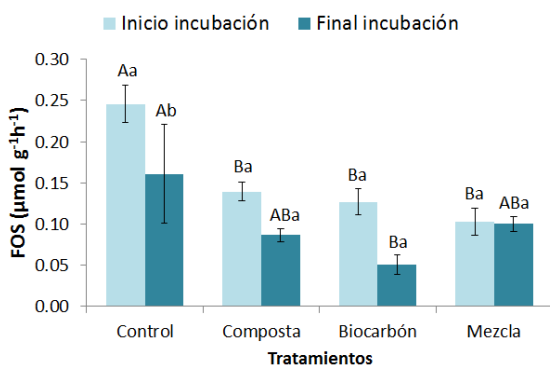


Figura 7. Media (\pm error estándar) de la enzima fosfatasa (FOS) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

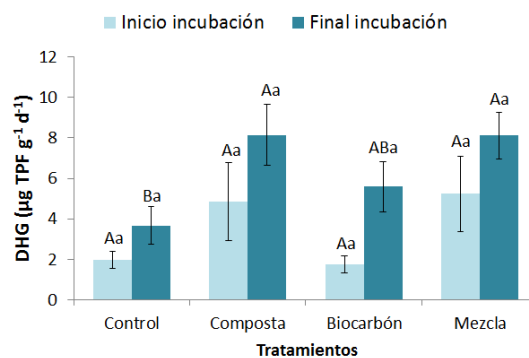


Figura 9. Media (\pm error estándar) de la enzima deshidrogenasa (DHG) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Tabla 5. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática y biomasa microbiana (C_{mic}) analizados en el modelo de RMANOVA, considerando el efecto “*tiempo*”.

Parámetros	Fuente de variación		
	Factor “Entre”	Factor “Dentro”	
	Tratamiento (T)	Tiempo (t)	Txt
BG	15.7 (<0.01)	14.7 (<0.01)	7.06 (<0.01)
FOS	8.51 (<0.01)	9.47 (<0.01)	1.09 (0.37)
PFO	8.94 (<0.01)	19.7 (<0.01)	7.95 (<0.01)
DHG	10.3 (<0.01)	6.59 (0.02)	0.16 (0.92)
C_{mic}	9.18 (<0.01)	13.2 (<0.01)	6.85 (<0.01)

7.1.3. Actividad enzimática específica (AEE).

No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos al inicio de la incubación, con excepción de la AEE FOS en la que *J* y *M* presentaron el valor más alto y más bajo respectivamente y resultaron ser diferentes entre sí.

En la AEE BG (figura 10) resultó significativa la interacción entre los tratamientos y el tiempo (tabla 6). Al final de la incubación aumentó 3.6 veces en *J* por lo que fue diferente a los tratamientos con enmiendas.

La AEE FOS (figura 11) presentó diferencias en los tratamientos y el tiempo, pero no en la interacción entre éstos (tabla 6). Se observó que al final de la incubación el valor disminuyó en todos los tratamientos menos en *J*, pero en ninguno disminuyó de forma significativa; en *J* el valor se mantuvo igual y fue >4 veces mayor que los demás tratamientos, por lo que resultó ser diferente a éstos.

La AEE PFO (figura 12) presentó diferencias en los tratamientos y el tiempo, pero no en la interacción entre éstos (tabla 6). Al final de la incubación el valor de AEE PFO aumentó 2.6 veces en *B*, el cual presentó los valores más altos, *M* presentó los valores más bajos, por lo que ambos fueron diferentes entre sí y con respecto a *J* y *C*. Éstos últimos se mantuvieron iguales y no fueron diferentes entre sí. En el caso de AEE DHG (figura 13) no se observaron diferencias en ningún factor.

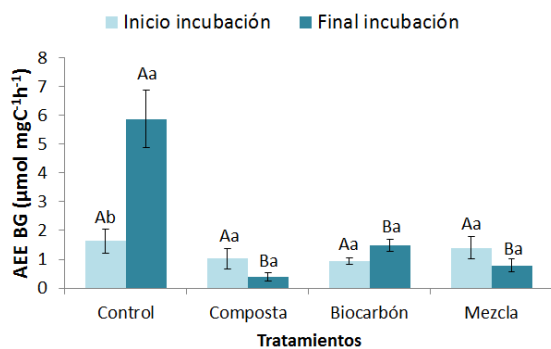


Figura 10. Media (± error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima β-glucosidasa (AEE BG) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

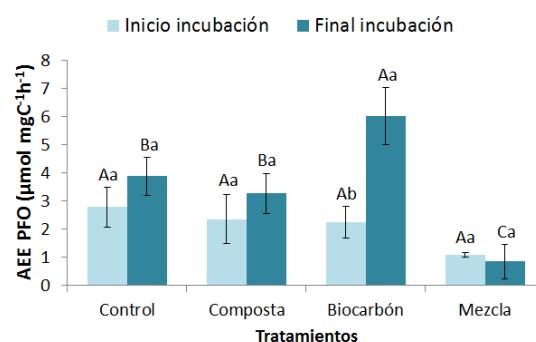


Figura 12. Media (± error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima polifenol oxidasa (AEE PFO) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

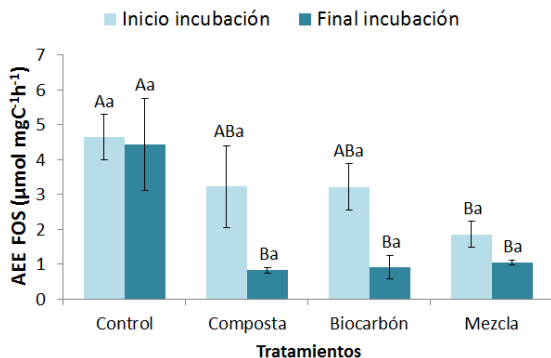


Figura 11. Media (± error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima fosfatasa (AEE FOS) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

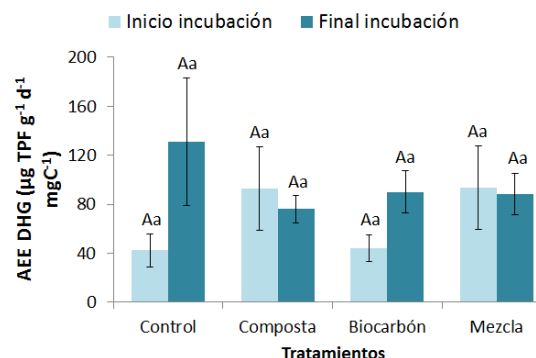


Figura 13. Media (± error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima deshidrogenasa (AEE DHG) para el análisis RMANOVA. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) en el factor “*tiempo*” y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Tabla 6. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática específica (AEE) analizados en el modelo de RMANOVA, considerando el efecto “*tiempo*”.

Parámetros	Fuente de variación		
	Factor “Entre”	Factor “Dentro”	
	Tratamiento (T)	Tiempo (t)	Txt
AEE BG	20.1 (<0.01)	7.73 (0.01)	12.9 (<0.01)
AEE FOS	10.4 (<0.01)	5.95 (0.03)	0.85 (0.48)
AEE PFO	7.60 (<0.01)	7.58 (0.01)	2.80 (0.07)
AEE DHG	0.31 (0.81)	1.96 (0.17)	1.47 (0.26)

7.1.4. Mineralización potencial de C.

La figura 14 muestra la producción de C-CO₂ acumulado durante los 108 días de incubación de cada tratamiento. Los valores más bajos los presentó *B*, seguido de *J*, y no fueron significativamente diferentes entre sí. El valor de *C* y *M* fue 1.6 y 1.3 veces respectivamente mayor en relación a *J* y *B*.

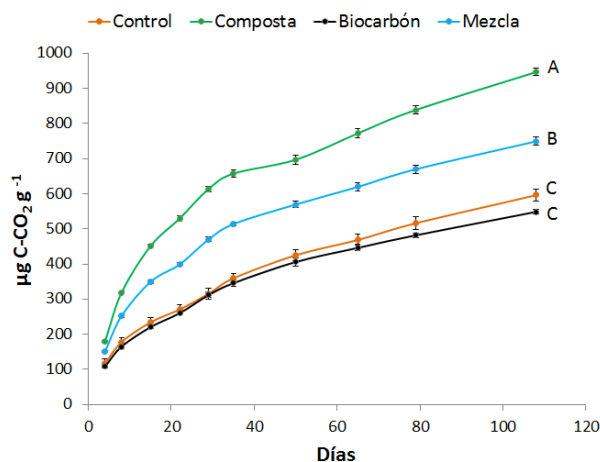


Figura 14. Medias (\pm error estándar) de la mineralización de carbono en forma de dióxido de carbono (C-CO₂) para los tratamientos. Letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

7.1.5. Coeficiente metabólico ($q\text{CO}_2$).

En la figura 15 se muestra el coeficiente metabólico ($q\text{CO}_2$) para cada tratamiento. El mayor $q\text{CO}_2$ lo presentó *J* y su valor fue el doble que el de los tratamientos con enmiendas orgánicas, por lo que resultó ser significativamente diferente a éstos últimos.

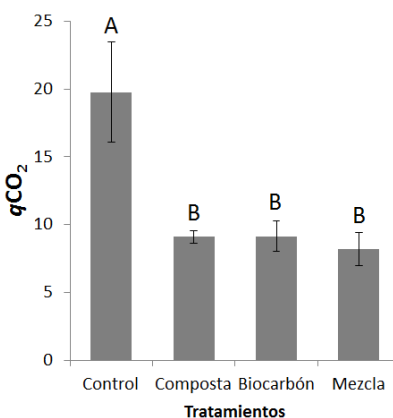


Figura 15. Medias (\pm error estándar) del coeficiente metabólico ($q\text{CO}_2$) para cada tratamiento. Letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

7.2. Efecto sobre la actividad microbiana por el establecimiento de plantas en jales mineros.

7.2.1. Actividad enzimática y biomasa microbiana (C_{mic}).

Se observó un aumento significativo en presencia de la planta de hasta 9 veces para FOS (figura 17) y de 2.3 veces para C_{mic} , (figura 20) y una disminución significativa de la mitad en el caso de la PFO (figura 18). La BG y DHG (figura 16 y 19 respectivamente) se mantuvieron sin cambios.

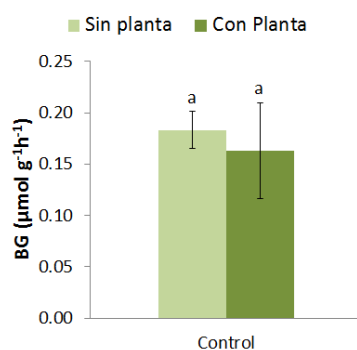


Figura 16 Medias (\pm error estándar) de la enzima β -glucosidasa (BG) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta.

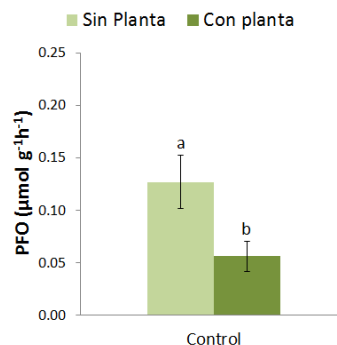


Figura 18. Medias (\pm error estándar) de la enzima polifenol oxidasa (PFO) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta

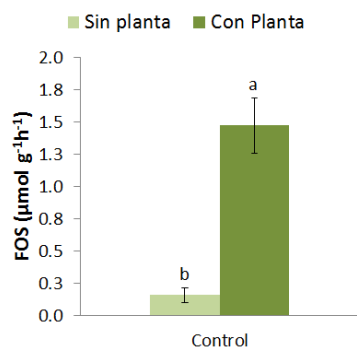


Figura 17. Medias (\pm error estándar) de la enzima fosfatasa (FOS) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta.

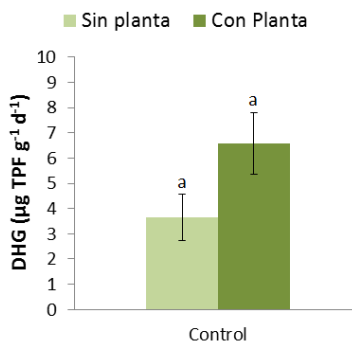


Figura 19. Medias (\pm error estándar) de la enzima deshidrogenasa (DHG) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta.

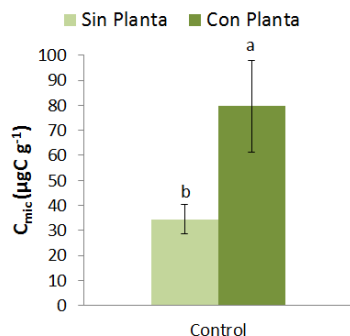


Figura 20. Medias (\pm error estándar) de la biomasa microbiana (C_{mic}) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta.

Tabla 7. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática y biomasa microbiana (C_{mic}) analizados en el modelo de ANOVA, considerando el efecto “planta”.

Parámetros	Fuente de variación
	Factor “Entre”
	Planta (P)
BG	0.16 (0.70)
FOS	34.8 (<0.01)
PFO	5.90 (<0.05)
DHG	3.64 (0.09)
C_{mic}	5.52 (0.04)

7.2.2. Actividad enzimática específica (AEE).

En presencia de la planta la AEE BG (figura 21) y AEE PFO (figura 23) mostraron una disminución significativa de 2.5 y 3.7 veces respectivamente. En la AEE FOS (figura 22) hubo un aumento significativo de 5 veces, mientras que en el caso de la AEE DHG (figura 24) sus valores se mantuvieron sin cambios.

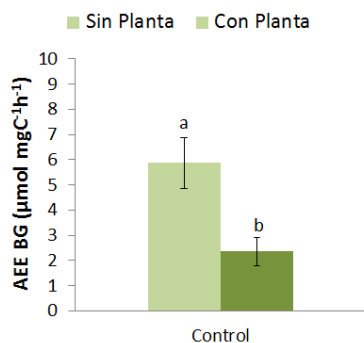


Figura 21. Medias (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de β -glucosidasa (AEE BG) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta.

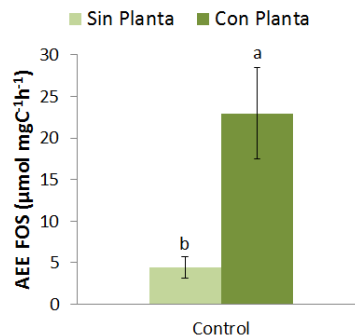


Figura 22. Medias (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de fosfatasa (AEE FOS) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta.

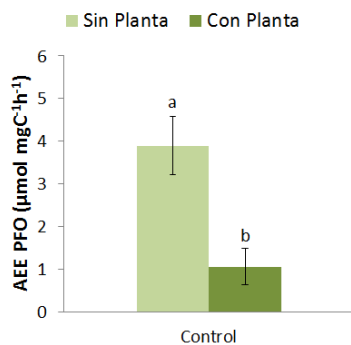


Figura 23. Medias (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de polifenol oxidasa (AEE PFO) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta.

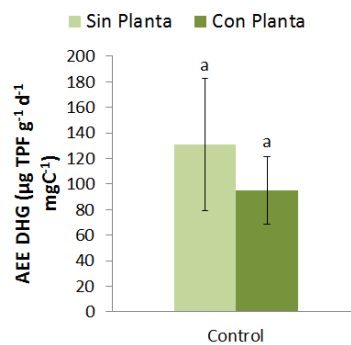


Figura 24. Medias (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de deshidrogenasa (AEE DHG) para el ANOVA de un factor. Letras minúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta.

Tabla 8. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática específica (AEE) analizados en el modelo de ANOVA, considerando el efecto “planta”.

Parámetros	Fuente de variación
	Factor “Entre”
	Planta (P)
AEE BG	9.24 (0.02)
AEE FOS	10.8 (0.01)
AEE PFO	12.3 (<0.01)
AEE DHG	0.37 (0.55)

7.3. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas y del establecimiento de una planta sobre la actividad microbiana en jales mineros.

7.3.1. Biomasa microbiana (C_{mic}).

En el C_{mic} (figura 25) resultó significativa la interacción entre el factor tratamientos y planta (tabla 9). Hubo un efecto en presencia de la planta para los tratamientos con adición de enmiendas ya que su valor es >2.5 veces mayor. En el tratamiento sin planta no hay diferencia entre los tratamientos con enmiendas, mientras que J sólo fue diferente de C y M , pero no de B . En el tratamiento con planta C y M no fueron diferentes entre sí, pero sí lo fueron de J y B , los cuales a su vez fueron diferentes entre sí.

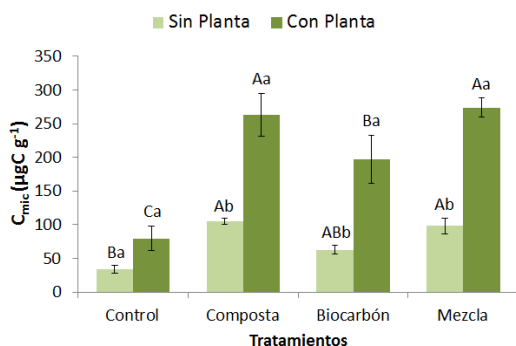


Figura 25. Media (\pm error estándar) de la biomasa microbiana (C_{mic}) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

7.3.2. Actividad enzimática.

La BG (figura 26) solo presentó diferencias significativas en el factor tratamientos (tabla 9). El tratamiento sin planta *J* presentó los valores más altos y no fue diferente de *B* pero sí lo fue de *C* y *M*. En presencia de planta solamente hubo diferencias entre *J* y *B*, ya que el primero presentó valores 4 veces mayores que el segundo.

La FOS (figura 27) presentó diferencias significativas en el factor tratamiento y planta, pero no en la interacción entre éstos (tabla 9). En el tratamiento sin planta *B* fue diferente a los demás tratamientos ya que presentó valores dos veces menores. Se observó un efecto en todos los tratamientos en presencia de la planta ya que los valores de la enzima aumentaron hasta un orden de magnitud (> 10 veces). En este último tratamiento solamente *J* y *B* fueron diferentes ya que el primero presentó los valores más altos y el segundo los más bajos.

En la PFO (figura 28) resultó significativa la interacción entre el factor tratamientos y planta (tabla 9). En el tratamiento sin planta *C* y *B* presentaron valores altos y ambos fueron diferentes de *J* y *M* ya que éstos presentaron los valores más bajos. En el tratamiento con planta *C* y *M* presentaron los valores más altos, pero solamente aumentó de forma significativa en *M* (> 7 veces) ambos tratamientos fueron diferentes de *J* ya que presentó los valores más bajos, mientras que *B* presentó valores intermedios que no fueron diferentes de ningún tratamiento.

En la DHG (figura 29) resultó significativa la interacción entre el factor tratamientos y planta (tabla 9). En el tratamiento sin planta no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, la presencia de la planta tuvo un efecto en los tratamientos con adición de enmiendas ya que su valor aumentó con respecto al tratamiento sin planta 6

veces para *C*, 7 veces para *B* y 2.6 veces para *M*, todos fueron diferentes entre sí, pero *C* presentó los valores más altos.

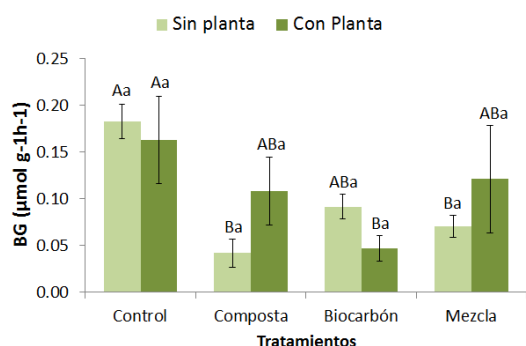


Figura 26. Media (\pm error estándar) de la enzima β -glucosidasa (BG) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

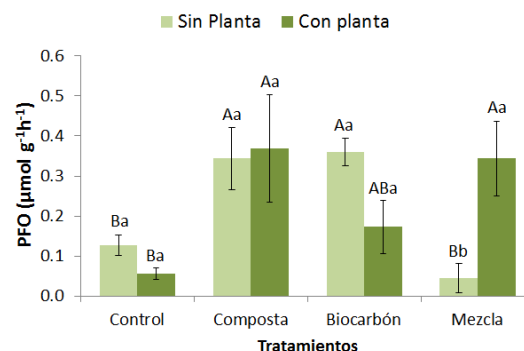


Figura 28. Media (\pm error estándar) de la enzima polifenol oxidasa (PFO) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

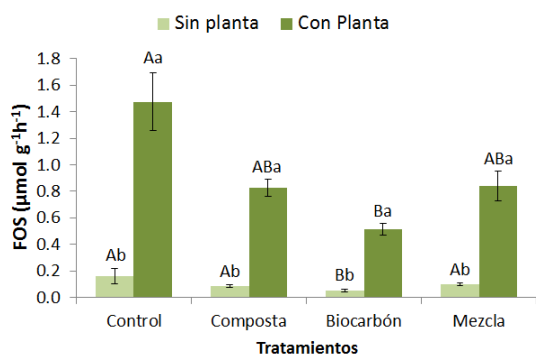


Figura 27. Media (\pm error estándar) de la enzima fosfatasa (FOS) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

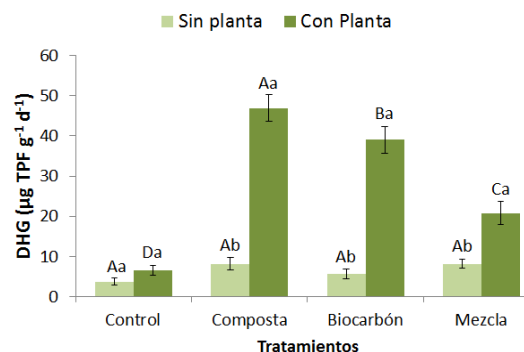


Figura 29. Media (\pm error estándar) de la enzima deshidrogenasa (DHG) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Tabla 9. Valores de *F* y (*p*) para los parámetros de actividad enzimática y biomasa microbiana (C_{mic}) analizados en el modelo de ANOVA Factorial, considerando el efecto “planta-tratamiento”.

Parámetros	Fuente de variación		
	Factor “Entre”	Factor “Dentro”	
	Tratamiento (<i>T</i>)	Planta (<i>P</i>)	<i>T</i> × <i>P</i>
BG	4.67 (<0.01)	0.35 (0.56)	1.47 (0.24)
FOS *	6.91 (<0.01)	238 (<0.01)	0.40 (0.75)
PFO	4.89 (<0.01)	0.06 (0.81)	3.91 (0.02)
DHG	40.0 (<0.01)	202 (<0.01)	30.2 (<0.01)
C_{mic}	19.4 (<0.01)	86.9 (<0.01)	4.43 (0.01)

*Datos transformados a ln

7.3.3. Actividad enzimática específica (AEE).

En la AEE BG (figura 30) en el tratamiento sin planta los valores fueron $>14, 4$ y >7 veces menores en *C*, *B* y *M* (respectivamente) y en relación con *J*. También se observa una disminución significativa del 40% en presencia de la planta para este último tratamiento, mientras que los tratamientos con enmiendas orgánicas se mantuvieron iguales con respecto al factor planta. En ausencia y presencia de planta *J* presentó los valores más altos, y fue diferente a los demás tratamientos.

En la AEE FOS (figura 31) en ausencia de la planta no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sólo hubo un aumento significativo (> 5 veces) en presencia de la planta para *J*, ya que presentó valores $>6, 8$ y >7 veces mayores con relación a *C*, *B* y *M* respectivamente.

En la AEE PFO (figura 32) en ausencia de planta *J* y *C* presentaron valores semejantes y ambos fueron diferentes de *B* y *M*, los cuales presentaron el valor más alto y bajo respectivamente y fueron diferentes entre sí. Se observó una disminución significativa en presencia de la planta para *J* y *B* (3.7 y 6 veces respectivamente), pero *C* y *M* se mantuvieron sin cambios, sin embargo al considerar solo el tratamiento con planta no hubo diferencias entre los tratamientos con enmiendas orgánicas.

En la AEE DHG (figura 33) en ausencia de la planta no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Se observó un aumento significativo en presencia de la planta para *C* y *B*, (2.4 y 2.6 veces respectivamente) mientras que *J* y *M* se conservaron sin cambios. En presencia de la planta *C* y *B* presentaron los valores más altos y ambos fueron diferentes de *J* y *M* ya que éstos presentaron los valores más bajos.

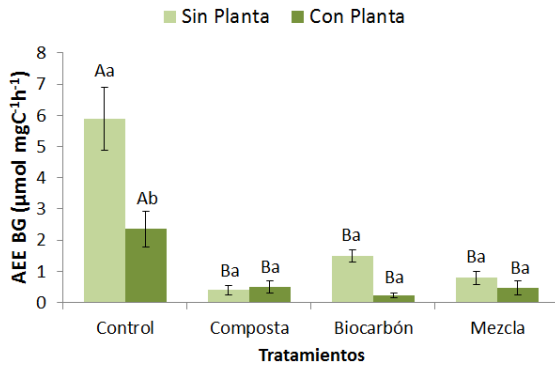


Figura 30. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima β -glucosidasa (AEE BG) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

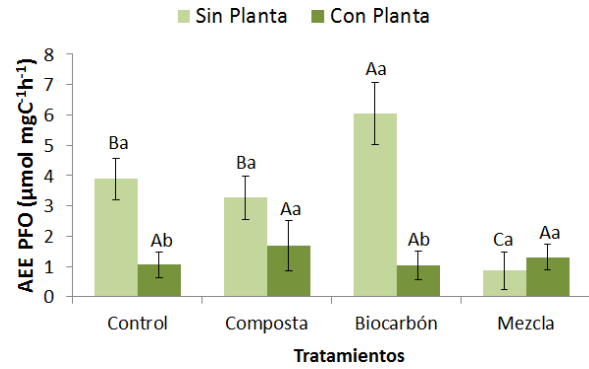


Figura 32. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima polifenol oxidasa (AEE PFO) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

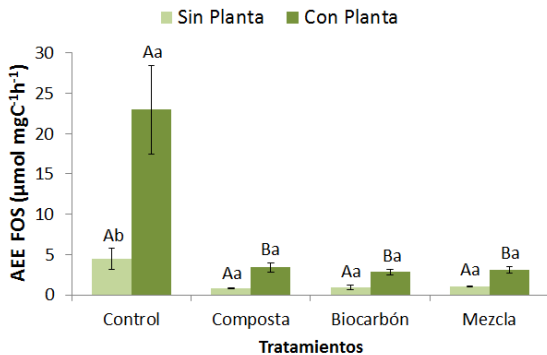


Figura 31. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima fosfatasa (AEE FOS) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

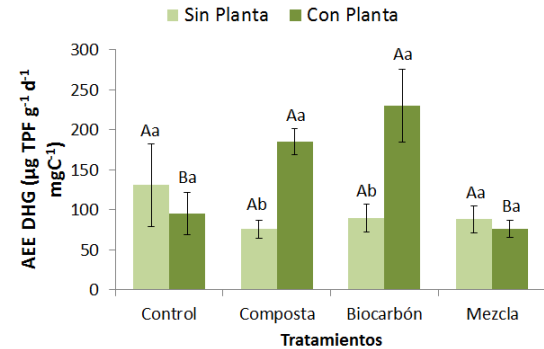


Figura 33. Media (\pm error estándar) de la actividad enzimática específica de la enzima deshidrogenasa (AEE DHG) para el análisis ANOVA Factorial. Letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la presencia o ausencia de la planta y letras mayúsculas distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Tabla 10. Valores de F y (p) para los parámetros de actividad enzimática específica (AEE) analizados en el modelo de ANOVA Factorial considerando el efecto “planta-tratamiento”.

Parámetros	Fuente de variación		
	Factor “Entre”	Factor “Dentro”	
	Tratamiento (T)	Planta (P)	TxP
AEE BG	31.5 (<0.01)	16.2 (<0.01)	6.77 (<0.01)
AEE FOS	16.8 (<0.01)	19.2 (<0.01)	8.20 (<0.01)
AEE PFO	4.39 (0.01)	21.9 (<0.01)	5.64 (<0.01)
AEE DHG	2.67 (0.07)	6.27 (0.02)	4.63 (<0.01)

8. DISCUSIÓN

8.1. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas y del cambio de condiciones sobre la actividad microbiana en jales mineros.

8.1.1. Mineralización e inmovilización de C.

En el presente trabajo se observó que la mineralización e inmovilización fueron promovidas con el cambio de temperatura y humedad durante la incubación en los tratamientos con adición de composta. Estos tratamientos presentaron una mayor mineralización de C con respecto al control (aumentando en un 59% en el tratamiento con composta y un 26% en el tratamiento mezcla) y con respecto al tratamiento con adición de biocarbón (aumentando un 73% y 36% respectivamente). Esto significa que el proceso de mineralización fue más rápido en los tratamientos con adición de composta y se atribuye a la presencia de compuestos lábiles que son fácilmente asimilables por los microorganismos. La adición del biocarbón al jal no tuvo efectos significativos en el proceso de mineralización. Esto es atribuido a la composición química del biocarbón, dada por la temperatura de pirólisis (1000°C), ya que se tiene reportado que durante este proceso los compuestos lábiles se volatilizan entre los 200°C y 400 °C, dejando como componentes restantes los compuestos recalcitrantes (Al-Wabel et al., 2013), los cuales son altamente estables y resistentes a la degradación por parte de la comunidad microbiana (figura 34).

La inmovilización de C en biomasa microbiana no fue modificada con la adición inmediata de las enmiendas orgánicas ya que no se observan diferencias significativas entre los tratamientos antes de ser sometidos a la incubación. El aumento de biomasa solo fue observado al final de la incubación en los tratamientos con adición de composta, los cuales, al tener altas concentraciones de compuestos lábiles, permiten que el C sea asimilado e inmovilizado en las células de los microorganismos, y no solamente sea utilizado para mantener la actividad metabólica de los mismos. Esto mismo fue reportado por de Mora et al. (2014), quienes determinaron los efectos de la adición de composta sobre la actividad microbiana en un suelo afectado por un accidente de dispersión de jales mineros. En contraparte, el control y el tratamiento con biocarbón no presentaron aumentos significativos en la biomasa microbiana, debido a que en ellos existe una baja

concentración de C lábil que limita la inmovilización de C y el crecimiento de los microorganismos (figura 34).

Todo lo anterior concuerda con las hipótesis 2) y 4), y sugiere que la mineralización e inmovilización de C en los jales mineros es dependiente de la adición de residuos orgánicos lábiles como la composta y que el efecto positivo de la adición de enmiendas orgánicas es promovido después de un cambio en las condiciones de humedad y temperatura durante un periodo de incubación.

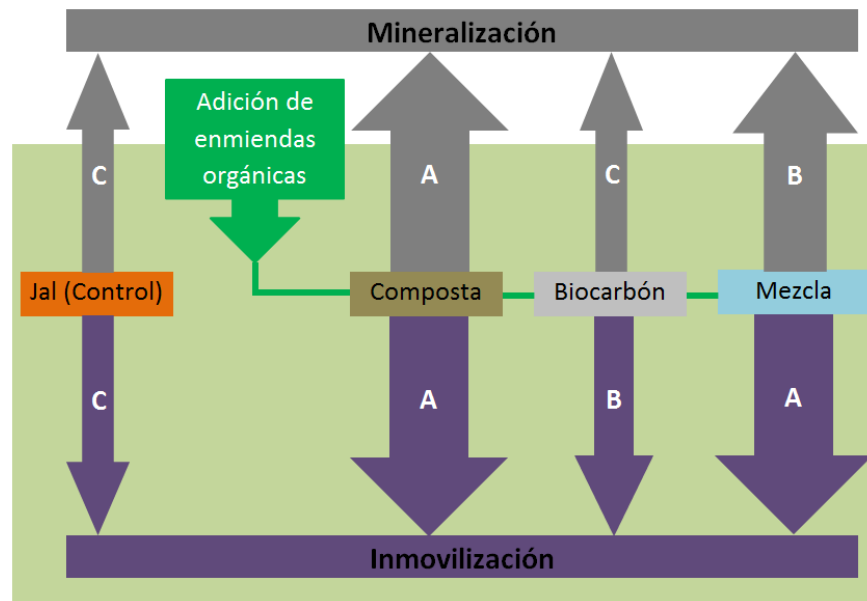


Figura 34. Modelo de mineralización e inmovilización de C para los tratamientos. El ancho de las flechas indica magnitud en la cantidad de C mineralizado o inmovilizado. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

8.1.2. Actividad enzimática.

En este trabajo, observamos que la adición inmediata de las enmiendas orgánicas disminuyó la actividad de la FOS con respecto al control. También se observó que en este último tratamiento, el cambio en la temperatura y humedad en la incubación disminuyó los valores de la FOS. Se ha reconocido que la producción de esta enzima aumenta cuando la disponibilidad de P es baja (Allison et al., 2007; Shukla y Varma, 2010; Vinhal et al., 2010), por lo que la disminución en los tratamientos con adición de enmiendas orgánicas indica que los microorganismos encontraron una fuente de P en ellas, además de que un

cambio en las condiciones de temperatura y humedad en el jal tiene efectos en la secreción de la FOS, lo cual es indicativo de las condiciones de estrés y los compromisos metabólicos a los que están expuestas las comunidades microbianas en estos ambientes.

Se observó que el cambio en la temperatura y humedad en la incubación y las características de las enmiendas orgánicas tuvieron efectos sobre la actividad de las enzimas relacionadas con la dinámica de C. Por ejemplo, los tratamientos con un bajo contenido de C lábil (control y biocarbón) presentaron aumentos significativos en la BG, y se atribuye a que los microorganismos están invirtiendo energía en la producción de esta enzima con el objetivo de obtener una fuente de carbono lábil (Moreno et al., 2017). Por otro lado, los tratamientos que sí presentan un carbono lábil (composta y mezcla) mantuvieron los mismos valores de BG con respecto al tiempo y menores con respecto al control, posiblemente debido a que en estos tratamientos el C dejó de ser un recurso limitante por la presencia de la composta, ocasionando que los microorganismos no aumentaran la actividad de ésta enzima (Alvarenga et al., 2008).

En relación con la PFO, la cual degrada el C estable o recalcitrante se encontró un aumento significativo en los tratamientos con adición de composta y biocarbón al final de la incubación, y sus valores son casi dos veces mayores con respecto al control y a la mezcla. Estos resultados eran de esperarse en el caso del tratamiento con biocarbón debido a que se constituye principalmente por compuestos recalcitrantes (Lehmann et al., 2010), pero en el caso del tratamiento con composta el aumento en la PFO aunado a su baja producción de BG indica que posiblemente el material original con el que se fabricó la composta (residuos de jardinería de la CDMX) contenga compuestos de cadena larga y compleja (Fialho et al., 2010) que ocasionan que los microorganismos inviertan su energía en la producción de esta enzima.

En el caso de la DHG no se observaron efectos por la incubación, sin embargo, esta enzima fue mayor en los tratamientos con adición de composta con relación al control, lo que nos indica que la adición de este tipo de enmienda proporciona compuestos que permiten el mantenimiento y la actividad de los microorganismos. Cabe mencionar que hay muchos estudios donde se evalúa la DHG en suelos contaminados con jales mineros remediados

con adición de composta y se reportan aumentos significativos de la enzima derivada de la estimulación de la actividad microbiana (de Mora et al., 2004; Alvarenga et al., 2008; Varennes et al., 2010; y Kohler et al., 2014).

Los resultados obtenidos de la actividad enzimática muestran que la producción de las enzimas responde a 3 principales factores: a las características de las enmiendas orgánicas (es decir, si son lábiles o recalcitrantes), a los efectos del cambio de condiciones de temperatura y humedad durante la incubación y a las condiciones de estrés por falta de nutrientes.

8.1.3. Cambio metabólico de la comunidad microbiana.

El valor del qCO_2 en todos los tratamientos con enmiendas orgánicas fue significativamente menor al control, mismo que fue reportado por Vinhal et al. (2010) y por Paz et al. (2012). Estos valores indican que la adición de enmiendas orgánicas contribuyó a disminuir el estrés de los microorganismos al usar la fuente de C adicionada para aumentar su biomasa microbiana y no solamente para mantener su actividad metabólica. La adición inicial de enmiendas orgánicas tuvo un efecto inmediato en la disminución de la actividad enzimática específica de la fosfatasa (AEE FOS), lo cual sugiere que disminuyó el estrés por falta de P en el tratamiento mezcla, ya que presentó valores menores con respecto al tratamiento control. El mismo efecto se observó al final de la incubación en los tratamientos con enmiendas orgánicas. Esto indica que en el control, el estrés por falta de P se mantuvo a pesar del mejoramiento en las condiciones de temperatura y humedad, y que solamente se redujo con la adición de enmiendas orgánicas, ya que éstas promueven la disminución en la secreción de FOS y al mismo tiempo promueven el aumento de la biomasa microbiana.

Los tratamientos que carecen de C lábil (control y biocarbón) fueron los que presentaron aumentos al final de la incubación en los valores de la AEE BG y la AEE PFO respectivamente y en relación a los demás tratamientos. Lo anterior indica que estos tratamientos presentan mayores condiciones de estrés ya que los microorganismos están invirtiendo su energía en la secreción de las enzimas y no en el aumento de su biomasa.

Lo anterior refleja el compromiso de los microorganismos entre utilizar los recursos para aumentar su biomasa e invertir energía en la búsqueda de los mismos (figura 35). Esto es evidente en el aumento de los valores de la AEE en los tratamientos con condiciones de estrés (control y biocarbón) por la falta de P y C lábil en comparación con los tratamientos con condiciones favorables en cuanto a disponibilidad de nutrientes (composta y mezcla).

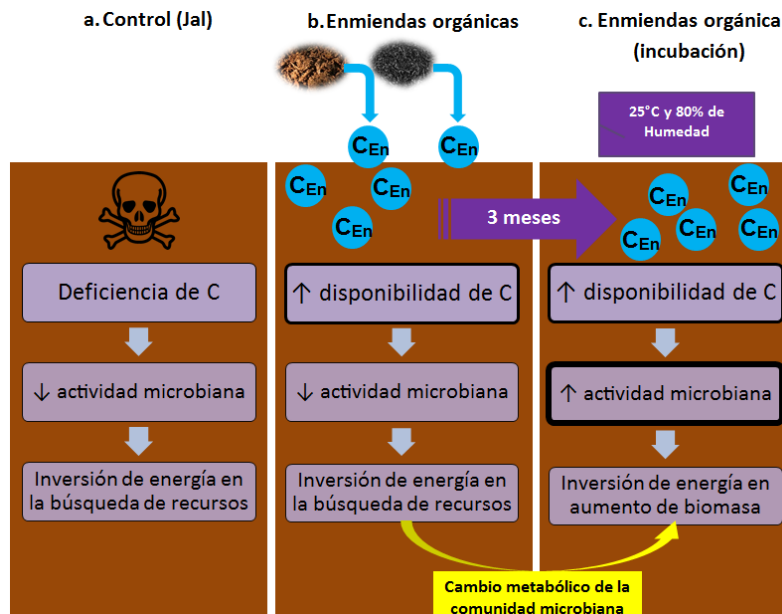


Figura 35. Modelo general de los efectos de la adición de enmiendas orgánicas y de la incubación sobre la actividad microbiana en jales mineros. **a.** tratamiento control en el tiempo cero, **b.** tratamientos con adición de enmiendas orgánicas sin incubar y **c.** tratamientos con adición de enmiendas orgánicas y sometidos a incubación. El grosor de los cuadros indica aumento. C_{En}=Carbono proveniente de las enmiendas orgánicas.

8.2. Efecto sobre la actividad microbiana por el establecimiento de plantas en jales mineros.

8.2.1. Inmovilización de C y actividad enzimática.

Se ha observado que los exudados y las raíces muertas de las plantas son una fuente de C lábil que tiene efectos sobre la actividad microbiana al permitir el crecimiento y mantenimiento de los microorganismos (Grayston, Vaughan y Jones, 1997; Caldwell, 2005). Esta incorporación de materia orgánica por medio de las raíces de las plantas favorece la actividad de los microorganismos, y en suelos degradados y limitados por carbono podría favorecer la disponibilidad de nutrientes (Meier et al., 2017), además de que

puede promover un proceso de retroalimentación positiva que asegure el establecimiento de nuevos individuos y la sobrevivencia de las plantas.

En nuestro caso se observó que la presencia de la planta aumentó > 9 veces la actividad de la FOS, lo que de acuerdo a la literatura se sugiere que puede deberse a dos principales razones: 1) las plantas también son capaces de secretar esta enzima para obtener P del medio, razón por la cual los valores aumentan ya que se suma la secreción de la FOS por parte de los microorganismos y por parte de la planta (Tarafdar y Jungk, 1987; Tarafdar y Claassen, 1988), y 2) el sistema presenta una deficiencia de P que se refleja en el aumento en la secreción de FOS por los microorganismos y/o por las plantas (figura 36).

Por otra parte, la presencia de la planta disminuyó los valores de PFO, mientras que la secreción de BG se mantuvo sin cambios. Esto último, junto con el aumento en los valores de biomasa microbiana indica que la planta está funcionando como una fuente de C lábil (a través de sus exudados, ver figura 36) que no necesita ser escindido por la secreción de BG y PFO, y que los microorganismos están usando este C disponible para aumentar su biomasa (Meier et al., 2017). También se observaron aumentos no significativos de la DHG, sin embargo, a pesar de que en esta variable el valor de p fue de 0.09 consideramos que el aumento fue significativo, es decir, que la planta sí tiene un efecto en la actividad de los microorganismos, y que el efecto no fue claro por la cantidad de muestras analizadas.

En correspondencia con la hipótesis 3), podemos decir que la presencia de una planta en los jales mineros tiene efectos en la secreción de enzimas como la FOS y que es una fuente de C lábil que permite a los microorganismos aumentar su biomasa sin tener que aumentar la inversión de energía en la producción de enzimas (figura 36).

8.2.2. Cambio metabólico de la comunidad microbiana.

La presencia de la planta en el tratamiento control tiene efectos en el uso eficiente del C disponible, ya que se observan disminuciones significativas en los valores de AEE BG y AEE PFO, valores que reflejan que los microorganismos están invirtiendo su energía en la inmovilización del C en la biomasa microbiana y no están invirtiendo energía en la secreción de enzimas en búsqueda de recursos, ya que son proporcionados por la planta a

través de sus exudados (figura 36) (Raiesi y Beheshti, 2014; Meier et al., 2017). Por otro lado, los valores de AEE DHG aparentemente se mantuvieron sin cambios, indicando que la inversión de energía en la actividad metabólica (respiración) de los microorganismos no fue modificada por la presencia de la planta, sin embargo, esto resulta ser incierto ya que los valores de DHG y biomasa microbiana aumentaron de forma proporcional, razón por la cual al momento de realizar el cociente, los valores de la AEE DHG no fueron diferentes, lo cual no reflejó el verdadero cambio metabólico de la comunidad microbiana.

Los valores de AEE FOS aumentaron de forma significativa en presencia de la planta debido a que la secreción de FOS es mucho mayor en relación a la biomasa microbiana. Estos valores indican condiciones de estrés por falta de P en el medio, razón por la cual los microorganismos y las plantas tienen que invertir su energía en la secreción de FOS. Lo anterior puede ser confirmado a través de la determinación del P total, orgánico e inorgánico presente en el medio los cuales no fueron determinados en el presente trabajo, pero abre una nueva pregunta para trabajos futuros.

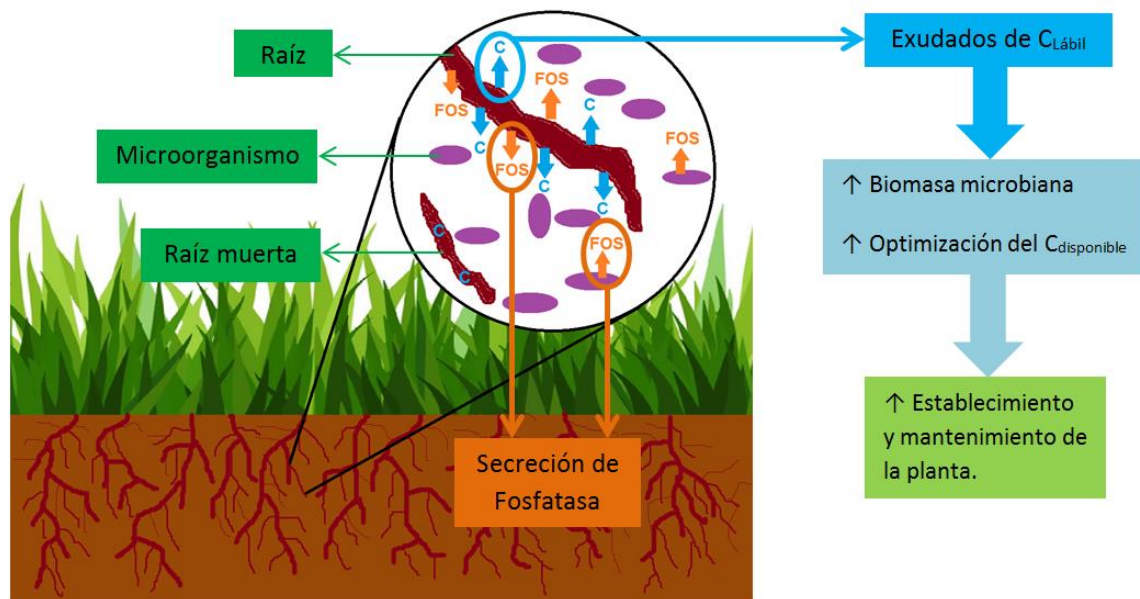


Figura 36. Modelo de los efectos de la planta sobre la actividad microbiana en jales mineros.

8.3. Efecto de la adición de enmiendas orgánicas y del establecimiento de una planta sobre la actividad microbiana en jales mineros.

8.3.1. Inmovilización de C.

La presencia de la planta tuvo efectos positivos en la inmovilización de C en los tratamientos con adición de enmiendas orgánicas, especialmente en los que se adicionó composta. Estos tratamientos en ausencia de planta son los que presentan los valores más altos de biomasa microbiana con respecto al control, y su valor aumenta > 2.5 veces con la presencia de la planta, indicando que tanto la composta como los exudados de la planta son una fuente de C lábil que los microorganismos pueden usar para aumentar su biomasa. En el caso del tratamiento con adición de biocarbón la presencia de la planta promovió el aumento de la biomasa (> 3 veces) pero su valor fue menor en comparación con los tratamientos con adición de composta (figura 37), esto atribuido a que se compone de sustancias estables o recalcitrantes que son difíciles de asimilar para los microorganismos.

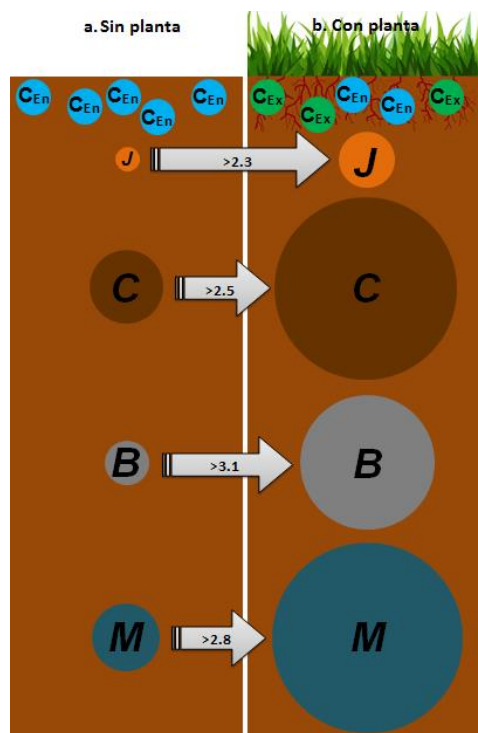


Figura 37. Modelo de inmovilización de C en los tratamientos **a.** con ausencia y **b.** con presencia de la planta. El tamaño de los círculos representa la concentración ($\mu\text{g C g}^{-1}$) de C inmovilizado en biomasa microbiana. C_{En} =Carbono proveniente de las enmiendas orgánicas, C_{Ex} =Carbono proveniente de los exudados de las plantas. Las letras representan los tratamientos: J= Jal, C=Composta, B=Biocarbón y M= Mezcla.

8.3.2. Actividad enzimática.

La producción de BG no presentó cambios significativos los tratamientos comparando la ausencia de planta con su presencia, sin embargo, el tratamiento con biocarbón y con presencia de planta fue el que presentó los valores más bajos con respecto al control, atribuido a que este tratamiento se compone de sustancias recalcitrantes que no pueden ser degradadas por la BG y a que la planta provee de C lábil que no necesita ser escindido por esta enzima (por tanto, los microorganismos no invierten energía en su síntesis). Varennes et al. (2010) y Alvarenga et al. (2014) analizaron los efectos de la adición de composta en suelos contaminados con residuos mineros sobre la actividad microbiana y en el crecimiento de una planta. Ambos autores reportan aumentos significativos de la BG en presencia de la planta (*Dactylis glomerata* y *Agrostis tenuis* respectivamente), algo que nosotros no encontramos.

En ausencia de planta los tratamientos con adición de composta y biocarbón presentaron los valores más altos de PFO y en estos mismos tratamientos la presencia de la planta no tuvo efecto en la secreción de esta enzima. Lo contrario sucedió en el tratamiento mezcla, en el que la PFO aumentó > 7 veces llegando a valores muy parecidos al tratamiento con adición de composta.

El tratamiento con adición de biocarbón y en ausencia de planta fue el que presentó los valores más bajos de FOS, sugiriendo que la adición del biocarbón provee de una fuente de P que disminuye la necesidad de secreción de FOS por parte de los microorganismos. Por otro lado, se observó que la presencia de la planta tuvo un gran efecto en la producción de esta enzima, ya que los valores aumentaron casi un orden de magnitud (>10 veces) en todos los tratamientos, lo que coincide con Varennes et al. (2010), ya que también reporta aumentos significativos de FOS en presencia de la planta. Esto se debe a que la planta es capaz de secretar FOS y a que el sistema presenta una deficiencia de P que se refleja en una mayor secreción de esta enzima por parte de la planta y de los microorganismos (Tarafdar y Jungk, 1987; Tarafdar y Claassen, 1988).

En los tratamientos sin planta, la adición de enmiendas orgánicas no tiene un efecto en la actividad de los microorganismos, ya que no se observan cambios en la enzima DHG. Lo

anterior cambia si se introduce una planta, ya que la actividad aumenta drásticamente en todos los tratamientos con enmiendas orgánicas y los valores más altos se presentan en el orden siguiente: *Composta*>*Biocarbón*>*Mezcla* (con respecto al control), lo que indica que las enmiendas orgánicas (especialmente la composta) y la planta funcionan como una fuente de recursos que permiten mantener la actividad de los microorganismos, lo cual coincide con la hipótesis 3) y 4).

8.3.3. Cambio metabólico de la comunidad microbiana.

En el tratamiento sin planta las condiciones de estrés que se observan en el control, reflejadas en altos valores de AEE BG son disminuidas por la adición de enmiendas orgánicas ya que los valores disminuyen un 15, 4 y >7 veces en *C*, *B* y *M* respectivamente. Sin embargo, en estos mismos tratamientos y en presencia de la planta los valores de AEE BG se mantienen sin cambios, es decir, que la planta no tiene efectos en la optimización de la energía relacionada con el uso del carbono disponible. Por el contrario, la planta sí tiene efectos en el tratamiento control ya que disminuye las condiciones de estrés al funcionar como una fuente de carbono lábil que puede ser asimilado e inmovilizado en la biomasa de los microorganismos.

En el caso de la AEE FOS, en ausencia de la planta todos los tratamientos presentan las mismas condiciones de estrés a pesar de la adición de enmiendas orgánicas, es decir, que estas últimas no modifican la optimización de energía por parte de los microorganismos en la búsqueda de P. En estos mismos tratamientos la planta no mejora las condiciones de estrés ya que los valores de AEE FOS se mantienen sin cambios, sin embargo, cabe resaltar que presentan valores de un orden de magnitud menores con respecto al control.

En los tratamientos sin planta el tratamiento con adición de biocarbón presenta los valores más altos de AEE PFO, indicando que los microorganismos están invirtiendo su energía en la secreción de PFO con el objetivo de romper las moléculas complejas de las que se compone el biocarbón. En este mismo tratamiento la presencia de la planta disminuye significativamente el estrés por la búsqueda de C ya que se observan disminuciones en los valores de AEE PFO, esto debido a que la planta funciona como una fuente de C que no necesita la secreción de PFO. Por otro lado, en los demás tratamientos los valores se

mantienen sin cambios, indicando que en estos tratamientos la planta no tiene un efecto en la optimización de energía.

En el caso de la AEE DHG la adición de enmiendas orgánicas no promueve un cambio metabólico en la optimización de energía ya que los valores no son diferentes del control. Por otro lado, con la introducción de una planta se observa que en los tratamientos con adición de composta y biocarbón los valores aumentan de forma significativa indicando que los microorganismos están invirtiendo más energía en procesos metabólicos básicos (respiración) y no tanto en procesos que incrementen su biomasa.

De forma general se observa que la adición de enmiendas orgánicas promueve la actividad microbiana, pero que la presencia de la planta intensifica esta actividad al proveer de otra fuente de nutrientes, sin embargo, no genera un gran cambio en la inversión de energía por parte de los microorganismos (figura 38).

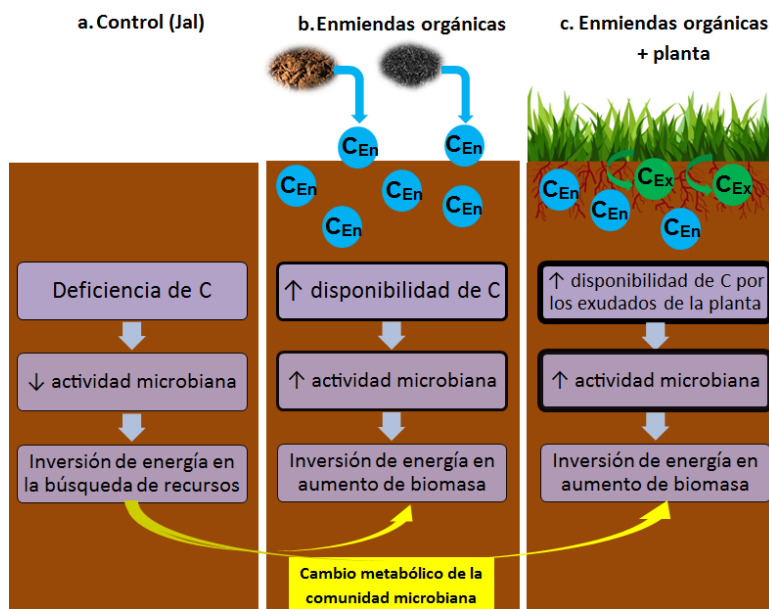


Figura 38. Modelo general de los efectos de la adición de enmiendas orgánicas y de la presencia de la planta sobre la actividad microbiana en jales mineros. a. tratamiento control, b. tratamientos con adición de enmiendas orgánicas y sin planta y c. tratamientos con adición de enmiendas orgánicas con planta. El grosor de los cuadros indica aumento. C_{En}=Carbono proveniente de las enmiendas orgánicas, C_{Ex}=Carbono proveniente de los exudados y raíces muertas de la planta.

9. CONCLUSIONES

Con base en las preguntas de investigación y en los resultados obtenidos en el presente trabajo se obtuvieron las siguientes conclusiones:

- 1) Los procesos de mineralización e inmovilización de C son dependientes de la adición de enmiendas orgánicas con compuestos de C lábiles como lo composta.
- 2) Los jales mineros con adición de enmiendas orgánicas en mejores condiciones de temperatura y humedad promueven la actividad enzimática y al mismo tiempo disminuyen las condiciones de estrés al funcionar como una fuente de C, lo cual ocasionó un cambio metabólico en la comunidad microbiana al permitir que los microorganismos invirtieran su energía en el aumento de biomasa y no es la búsqueda de recursos.
- 3) La presencia de la planta en el tratamiento control tiene un efecto positivo en la actividad microbiana al funcionar como una fuente de C lábil a través de sus exudados. No obstante, la adición de enmiendas orgánicas en presencia de la planta intensificó la actividad microbiana en el orden siguiente: *Composta>Mezcla>Biocarbón*.

Finalmente se concluye que en la adición de biocarbón pirolizado a altas temperaturas no es una buena opción para promover la actividad microbiana en estos jales mineros debido a su composición recalcitrante ya que presentó valores bajos de biomasa microbiana y similitudes con el tratamiento control en indicadores relacionados con la dinámica de C, como la mineralización y actividad de la enzima β -glucosidasa. Por el contrario, la adición de composta en conjunto con la siembra del pasto es el escenario más conveniente para promover la actividad microbiana en los jales mineros, lo cual podría favorecer la estabilización de los mismos.

10. REFERENCIAS

- Acosta, Y., y Paolini, J. (2005). Actividad de la enzima deshidrogenasa en un suelo calciorthids enmendado con residuos orgánicos. *Agronomía Tropical*, 55(2), 217-232.
- Agegehu, G., Bass, A. M., Nelson, P. N., y Bird, M. I. (2016). Benefits of biochar, compost and biochar-compost for soil quality, maize yield and greenhouse gas emissions in a tropical agricultural soil. *Science of the Total Environment*, 543, 295-306.
- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., y Ingelmo, F. (2000). Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology*, 75(1), 43-48.
- Allison, V. J., Condon, L. M., Peltzer, D. A., Richardson, S. J., y Turner, B. L. (2007). Changes in enzyme activities and soil microbial community composition along carbon and nutrient gradients at the Franz Josef chronosequence, New Zealand. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(7), 1770-1781.
- Alvarenga, P., Gonçalves, A. P., Fernandes, R. M., De Varennes, A., Vallini, G., Duarte, E., y Cunha-Queda, A. C. (2008). Evaluation of composts and liming materials in the phytostabilization of a mine soil using perennial ryegrass. *Science of the Total Environment*, 406(1), 43-56.
- Alvarenga, P., de Varennes, A., y Cunha-Queda, A. C. (2014). The effect of compost treatments and a plant cover with *Agrostis tenuis* on the immobilization/mobilization of trace elements in a mine-contaminated soil. *International Journal of Phytoremediation*, 16(2), 138-154.
- Al-Wabel, M. I., Al-Omran, A., El-Naggar, A. H., Nadeem, M., y Usman, A. R. (2013). Pyrolysis temperature induced changes in characteristics and chemical composition of biochar produced from conocarpus wastes. *Bioresource Technology*, 131, 374-379.
- Ameloot, N., De Neve, S., Jegajeevagan, K., Yildiz, G., Buchan, D., Funkuin, Y. N., Prins, W., Bouckaert, L. y Sleutel, S. (2013). Short-term CO₂ and N₂O emissions and microbial properties of biochar amended sandy loam soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 401-410.
- Bailey, V. L., Fansler, S. J., Smith, J. L., y Bolton, H. (2011). Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(2), 296-301.
- Barrios, E. (2007). Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecological Economics*, 64(2), 269-285.

- Beesley, L., Moreno, E., Gomez-Eyles, J. L., Harris, E., Robinson, B., y Sizmur, T. (2011). A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils. *Environmental Pollution*, 159(12), 3269-3282.
- Burns, R. G., DeForest, J. L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R. L., Stromberger, M. E., Wallenstein, M. D., Weintraub, N. M. y Zoppini, A. (2013). Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 58, 216-234.
- Caldwell, B. A. (2005). Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia*, 49(6), 637-644.
- Cambardella, C. A., Richard, T. L., y Russell, A. (2003). Compost mineralization in soil as a function of composting process conditions. *European Journal of Soil Biology*, 39(3), 117-127.
- Cárdenas, J. (2013). La minería en México: despojo a la nación. *Cuestiones Constitucionales*, (28), 35-74.
- Chan, K. Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A., y Joseph, S. (2008). Using poultry litter biochars as soil amendments. *Soil Research*, 46(5), 437-444.
- Chávez-Vergara, B., Merino, A., Vázquez-Marrufo, G., y García-Oliva, F. (2014). Organic matter dynamics and microbial activity during decomposition of forest floor under two native neotropical oak species in a temperate deciduous forest in Mexico. *Geoderma*, 235, 133-145.
- Chávez-Vergara, B., Rosales-Castillo, A., Merino, A., Vázquez-Marrufo, G., Oyama, K., & García-Oliva, F. (2016). Quercus species control nutrients dynamics by determining the composition and activity of the forest floor fungal community. *Soil Biology and Biochemistry*, 98, 186-195.
- Crecchio, C., Curci, M., Mininni, R., Ricciuti, P., y Ruggiero, P. (2001). Short-term effects of municipal solid waste compost amendments on soil carbon and nitrogen content, some enzyme activities and genetic diversity. *Biology and Fertility of Soils*, 34(5), 311-318.
- Crecchio, C., Curci, M., Pizzigallo, M. D., Ricciuti, P., y Ruggiero, P. (2004). Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(10), 1595-1605.
- Csavina, J., Landázuri, A., Wonaschütz, A., Rine, K., Rheinheimer, P., Barbaris, B., y Betterton, E. A. (2011). Metal and metalloid contaminants in atmospheric aerosols from mining operations. *Water, Air, & Soil Pollution*, 221(1-4), 145-157.

- Cui, L., Yan, J., Yang, Y., Li, L., Quan, G., Ding, C., Chen, T., Fu, Q. y Chang, A. (2013). Influence of biochar on microbial activities of heavy metals contaminated paddy fields. *BioResources*, 8(4), 5536-5548.
- Dai, J., Becquer, T., Rouiller, J. H., Reversat, G., Bernhard-Reversat, F., y Lavelle, P. (2004). Influence of heavy metals on C and N mineralisation and microbial biomass in Zn, Pb, Cu, and Cd contaminated soils. *Applied Soil Ecology*, 25(2), 99-109.
- de Araújo, A. S. F., de Melo, W. J., y Singh, R. P. (2010). Municipal solid waste compost amendment in agricultural soil: changes in soil microbial biomass. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 9(1), 41-49.
- de la Fuente, C., Clemente, R., Martínez-Alcalá, I., Tortosa, G., y Bernal, M. P. (2011). Impact of fresh and composted solid olive husk and their water-soluble fractions on soil heavy metal fractionation; microbial biomass and plant uptake. *Journal of Hazardous Materials*, 186(2), 1283-1289.
- Delgadillo, L. y Martínez, J. R. (2010). Manual de procedimientos analíticos. Laboratorio de Física de Suelos, Departamento de Edafología. Instituto de Geología UNAM.
- de Mora, A. P., Ortega-Calvo, J. J., Cabrera, F., y Madejón, E. (2005). Changes in enzyme activities and microbial biomass after “in situ” remediation of a heavy metal-contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, 28(2), 125-137.
- de Varennes, A., Cunha-Queda, C., y Qu, G. (2010). Amendment of an acid mine soil with compost and polyacrylate polymers enhances enzymatic activities but may change the distribution of plant species. *Water, Air, and Soil Pollution*, 208(1-4), 91-100.
- Duran, N., y Esposito, E. (2000). Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review. *Applied Catalysis B: Environmental*, 28(2), 83-99.
- Durenkamp, M., Luo, Y., y Brookes, P. C. (2010). Impact of black carbon addition to soil on the determination of soil microbial biomass by fumigation extraction. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(11), 2026-2029.
- Effron, D., De la Horra, A. M., Defrieri, R. L., Fontanive, V., y Palma, R. M. (2004). Effect of cadmium, copper, and lead on different enzyme activities in a native forest soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 35(9-10), 1309-1321.
- Espino, V., y Romero, F. (2014). Afectación de suelos y sedimentos por la dispersión de los residuos mineros históricos del distrito minero San Antonio - El Triunfo, BCS. (Tesis de Licenciatura), UNAM, México.

- Farm to table. (2017). Crop talk; 6 steps to a thriving compost pile. Recuperado de: <http://farmtotableguam.org/crop-talk-6-steps-to-a-thriving-compost-pile/>
- Fellet, G., Marchiol, L., Delle Vedove, G., y Peressotti, A. (2011). Application of biochar on mine tailings: effects and perspectives for land reclamation. *Chemosphere*, 83(9), 1262-1267.
- Fialho, L. L., Da Silva, W. T. L., Milori, D. M., Simões, M. L., y Martin-Neto, L. (2010). Characterization of organic matter from composting of different residues by physicochemical and spectroscopic methods. *Bioresource Technology*, 101(6), 1927-1934.
- Fini, A., Degl'Innocenti, C., y Ferrini, F. (2016). Effect of Mulching with Compost on Growth and Physiology of Ulmus' FL634'Planted in an Urban Park. *Arboriculture & Urban Forestry*, 42(3).
- Foster, E. J., Hansen, N., Wallenstein, M., y Cotrufo, M. F. (2016). Biochar and manure amendments impact soil nutrients and microbial enzymatic activities in a semi-arid irrigated maize cropping system. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 233, 404-414.
- García, J. C., Plaza, C., Soler, P., y Polo, A. (2000). Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 32(13), 1907-1913.
- Gil, J., White, S. A., Root, R. A., Solís, F. A., Hammond, C. M., Chorover, J., y Maier, R. M. (2016). Phytostabilization of mine tailings using compost-assisted direct planting: translating greenhouse results to the field. *Science of the Total Environment*, 565, 451-461.
- Gomez, E., Ferreras, L., y Toresani, S. (2006). Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. *Bioresource Technology*, 97(13), 1484-1489.
- Gómez, J. M., Santana, J., Romero, F., Armienta, M. A., Morton, O., y Aurora, E. (2010). Plantas de sitios contaminados con desechos mineros en Taxco, Guerrero, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (87), 131-133.
- Glaser, B., Lehmann, J., y Zech, W. (2002). Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal-a review. *Biology and Fertility of Soils*, 35(4), 219-230.
- Grayston, S. J., Vaughan, D., y Jones, D. (1997). Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Applied Soil Ecology*, 5(1), 29-56.
- Guerrero, P. L., Quintero, R., Espinoza, V., Benedicto, G. S., y Sánchez, M. D. J. (2012). Respiration of CO₂ as an indicator of microbial activity in organic fertilizers of lupinus. *Terra Latinoamericana*, 30(4), 355-362.

- Gul, S., Whalen, J. K., Thomas, B. W., Sachdeva, V., y Deng, H. (2015). Physico-chemical properties and microbial responses in biochar-amended soils: mechanisms and future directions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 206, 46-59.
- Gutiérrez, M., Romero, F. M., y González, G. (2007). Suelos y sedimentos afectados por la dispersión de jales inactivos de sulfuros metálicos en la zona minera de Santa Bárbara, Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 24(2), 170-184.
- Henríquez, C., Uribe, L., Valenciano, A., y Nogales, R. (2014). Actividad enzimática del suelo Deshidrogenasa, β -Glucosidasa, Fosfatasa y Ureasa bajo diferentes cultivos. *Agronomía Costarricense*, 38(1).
- Hernández, E., Mondragón, E., Cristobal, D., Rubiños, J. E., y Robledo, E. (2009). Vegetación, residuos de mina y elementos potencialmente tóxicos de un jal de Pachuca, Hidalgo, México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 15(2), 109-114.
- Hernández, M. L., Padilla, C. M., y Armienta, M. A. (2010). Movilidad ambiental de metales en residuos mineros de la región de Zimapán, Hidalgo. (Tesis de Licenciatura). UNAM, México.
- Hmid, A., Al Chami, Z., Sillen, W., De Vocht, A., y Vangronsveld, J. (2015). Olive mill waste biochar: a promising soil amendment for metal immobilization in contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(2), 1444-1456.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI) (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Taxco de Alarcón, Guerrero. Clave geoestadística 12055. Recuperado de <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/12/12055.pdf>
- International Biochar Initiative. (2017). Biochar Technology. Recuperado de <http://www.biochar-international.org/technology>
- Interstate Technology and Regulatory Cooperation (ITRC). (2001). Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance Document. Interstate Technology & Regulatory Council, Washington, DC.
- Joergensen, R. G., y Mueller, T. (1996). The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the kEN value. *Soil Biology and Biochemistry*, 28(1), 33-37.
- Jones, S., Bardos, R. P., Kidd, P. S., Mench, M., de Leij, F., Hutchings, T., y Herzig, R. (2016). Biochar and compost amendments enhance copper immobilisation and support plant growth in contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, 171, 101-112.

- Kandeler, F., Kampichler, C., y Horak, O. (1996). Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biology and Fertility of Soils*, 23(3), 299-306.
- Karaca, A., Cetin, S. C., Turgay, O. C., y Kizilkaya, R. (2010). Effects of heavy metals on soil enzyme activities. Springer Berlin Heidelberg.
- Karami, N., Clemente, R., Moreno-Jiménez, E., Lepp, N. W., y Beesley, L. (2011). Efficiency of green waste compost and biochar soil amendments for reducing lead and copper mobility and uptake to ryegrass. *Journal of Hazardous Materials*, 191(1), 41-48.
- Kayikcioglu, H. H. (2013). Effects of composts from agroindustrial wastes on microbial activity of a typic xerofluvent soil under Mediterranean conditions, SE Turkey. *Geomicrobiology Journal*, 30(3), 228-236.
- Keith, A., Singh, B., y Singh, B. P. (2011). Interactive priming of biochar and labile organic matter mineralization in a smectite-rich soil. *Environmental Science & Technology*, 45(22), 9611-9618.
- Kelly, C. N., Peltz, C. D., Stanton, M., Rutherford, D. W., y Rostad, C. E. (2014). Biochar application to hardrock mine tailings: soil quality, microbial activity, and toxic element sorption. *Applied Geochemistry*, 43, 35-48.
- Khan, K. S., y Huang, C. Y. (1999). Effects of heavy metal pollution on soil microbial biomass. *Journal of Environmental Sciences*, 11(1), 40-47.
- Kohler, J., Caravaca, F., Azcón, R., Díaz, G., y Roldán, A. (2015). The combination of compost addition and arbuscular mycorrhizal inoculation produced positive and synergistic effects on the phytomanagement of a semiarid mine tailing. *Science of the Total Environment*, 514, 42-48
- Kujur, M., y Kumar Patel, A. (2014). Kinetics of soil enzyme activities under different ecosystems: An index of soil quality. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 74(1), 96-104.
- Kutílek, M., y Nielsen, D. R. (2015). *Soil Is the Skin of the Planet Earth*. In Soil (pp. 13-19). Springer Netherlands.
- Lata, S., y Marschner, P. (2013). Compost effects on microbial biomass and soil P pools as affected by particle size and soil properties. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(2), 313-328.
- Lehmann, J., Rillig, M. C., Thies, J., Masiello, C. A., Hockaday, W. C., y Crowley, D. (2011). Biochar effects on soil biota—a review. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(9), 1812-1836.
- Lehmann, J., y Joseph, S. (Eds.). (2015). *Biochar for environmental management: science, technology and implementation*. Routledge.

- Liao, M., y Huang, C. Y. (2005). Effect of combined pollution by heavy metals on soil enzymatic activities in areas polluted by tailings from Pb-Zn-Ag mine. *Journal of Environmental Sciences*, 17(4), 637-640.
- Luo, Y., Durenkamp, M., De Nobili, M., Lin, Q., Devonshire, B. J., y Brookes, P. C. (2013). Microbial biomass growth, following incorporation of biochars produced at 350° C or 700° C, in a silty-clay loam soil of high and low pH. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 513-523.
- Meier, I. C., Finzi, A. C., y Phillips, R. P. (2017). Root exudates increase N availability by stimulating microbial turnover of fast-cycling N pools. *Soil Biology and Biochemistry*, 106, 119-128.
- Malley, C., Nair, J., y Ho, G. (2006). Impact of heavy metals on enzymatic activity of substrate and on composting worms *Eisenia fetida*. *Bioresource Technology*, 97(13), 1498-1502.
- Medel, A., Ramos, S., Avelar, F. J., Mora, L. A. G., y Rodríguez, F. (2008). Caracterización de Jales Mineros y evaluación de su peligrosidad con base en su potencial de lixiviación. *Conciencia Tecnológica*, (35).
- Mejía, J., Carrizales, L., Rodríguez, V. M., Jiménez, M. E., y Díaz, F. (1999). Un método para la evaluación de riesgos para la salud en zonas mineras. *Salud Pública de México*, 41(2).
- Mendez, M. O., Glenn, E. P., y Maier, R. M. (2007). Phytostabilization potential of quailbush for mine tailings. *Journal of Environmental Quality*, 36(1), 245-253.
- Mendez, M. O., y Maier, R. M. (2008). Phytostabilization of mine tailings in arid and semiarid environments—an emerging remediation technology. *Environmental Health Perspectives*, 116(3), 278.
- Mexicana, N. O. NOM-141-SEMARNAT-2003 (Ago 2004). “Que establece el procedimiento para caracterizar los jales, así como las especificaciones y criterios para la caracterización y preparación del sitio, proyecto, construcción, operación y post-operación de presas de jales”, México, DF.
- Mexicana, N. O. (2004). NOM-147-SEMARNAT/SSA1-2004. Que establece criterios para determinar las concentraciones de remediación de suelos contaminados por arsénico, bario, berilio, cadmio, cromo hexavalente, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio, talio y/o vanadio.
- Moreno, F., Faz, Á., Acosta, J. A., Soriano, M., Martínez, S., y Zornoza, R. (2017). Use of *Piptatherum miliaceum* for the phytomanagement of biochar amended Technosols derived from pyritic tailings to enhance soil aggregation and reduce metal (loid) mobility. *Geoderma*, 307, 159-171.

- Moynahan, O. S., Zabinski, C. A., y Gannon, J. E. (2002). Microbial Community Structure and Carbon-Utilization Diversity in a Mine Tailings Revegetation Study. *Restoration Ecology*, 10(1), 77-87.
- Nagajyoti, P. C., Lee, K. D., y Sreekanth, T. V. M. (2010). Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 8(3), 199-216.
- Nannipieri, P., Giagnoni, L., Landi, L., y Renella, G. (2011). Role of phosphatase enzymes in soil. *In Phosphorus in action* (pp. 215-243). Springer Berlin Heidelberg.
- Nayak, D. R., Babu, Y. J., y Adhya, T. K. (2007). Long-term application of compost influences microbial biomass and enzyme activities in a tropical Aerico Endoaquept planted to rice under flooded condition. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 1897-1906.
- Pardo, T., Martínez, D., Clemente, R., Walker, D. J., y Bernal, M. P. (2014). The use of olive-mill waste compost to promote the plant vegetation cover in a trace-element-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(2), 1029-1038.
- Paul, E. A. (2014). *Soil microbiology, ecology and biochemistry*. Academic press.
- Paz, J., Gascó, G., Gutiérrez, B., y Méndez, A. (2012). Soil biochemical activities and the geometric mean of enzyme activities after application of sewage sludge and sewage sludge biochar to soil. *Biology and Fertility of Soils*, 48(5), 511-517.
- Paz, J., Lu, H., Fu, S., Méndez, A., y Gascó, G. (2014). Use of phytoremediation and biochar to remediate heavy metal polluted soils: a review. *Solid Earth*, 5(1), 65.
- Pérez, I., y Martín, F. (2015). Uso de parámetros indirectos para la evaluación de la contaminación de suelos por metales pesados en una zona minera de San Luis Potosí, México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 67(1), 01-12.
- Pietikäinen, J., Kiiikkilä, O., y Fritze, H. (2000). Charcoal as a habitat for microbes and its effect on the microbial community of the underlying humus. *Oikos*, 89(2), 231-242.
- Prayogo, C., Jones, J. E., Baeyens, J., y Bending, G. D. (2014). Impact of biochar on mineralisation of C and N from soil and willow litter and its relationship with microbial community biomass and structure. *Biology and Fertility of Soils*, 50(4), 695-702.
- Raiesi, F., y Beheshti, A. (2014). Soil specific enzyme activity shows more clearly soil responses to paddy rice cultivation than absolute enzyme activity in primary forests of northwest Iran. *Applied Soil Ecology*, 75, 63-70.
- Ramos, Y. R., y Siebe, C. D. (2006). Estrategia para identificar jales con potencial de riesgo ambiental en un distrito minero: estudio de caso en el Distrito de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 23(1), 54-74.

- Rodríguez, A., Covelo, E. F., Forján, R., y Asensio, V. (2014). Phytoremediating a copper mine soil with *Brassica juncea* L., compost and biochar. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(19), 11293-11304.
- Romero, F. M., Armienta, M. A., Gutiérrez, M. E., y Villaseñor, G. (2008). Factores geológicos y climáticos que determinan la peligrosidad y el impacto ambiental de jales mineros. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 24(2), 43-54.
- Ros, M., Klammer, S., Knapp, B., Aichberger, K., y Insam, H. (2006). Long-term effects of compost amendment of soil on functional and structural diversity and microbial activity. *Soil Use and Management*, 22(2), 209-218.
- Saison, C., Degrange, V., Oliver, R., Millard, P., Commeaux, C., Montange, D., y Le Roux, X. (2006). Alteration and resilience of the soil microbial community following compost amendment: effects of compost level and compost-borne microbial community. *Environmental Microbiology*, 8(2), 247-257.
- Santos, J. E., Coria, J., de Jesús Huevo, J., y Rodríguez, G. (2013). Influencia de jales mineros sobre el río Maconí, Queretaro, y evaluación del proceso de atenuación natural por dispersión. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 65(3), 645-660.
- Secretaría de Agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA). (s.f.). Recuperado de http://red.ilce.edu.mx/sitios/proyectos/recup_nuestroamb_oto16/pdf/elaboracion_de_composta_sagarpa.pdf
- Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL). (2013). Taxco de Alarcón, Guerrero. Recuperado de <http://www.microrregiones.gob.mx/zap/datGenerales.aspx?entra=pdzp&ent=12&mun=055>
- Shimada, K. y Sánchez, S. (2007). Determinación de cationes intercambiables por extracción con acetato de amonio 1 N pH 7. Laboratorio de Edafología Ambiental, Instituto de Geología, UNAM.
- Shukla, G., y Varma, A. (Eds.). (2010). *Soil enzymology* (Vol. 22). Springer Science & Business Media.
- Siebe, C., y Jahn, R. (1996). Manual para la descripción y evaluación ecológica de suelos en el campo (No. Folleto 15842).
- Sohi, S. P., Krull, E., Lopez-Capel, E., y Bol, R. (2010). A review of biochar and its use and function in soil. *Advances in Agronomy*, 105, 47-82
- Stevenson, F. J., y Cole, M. A. (1999). *Cycles of soils: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*. John Wiley & Sons.

- Taiwo, A. M., Gbadebo, A. M., Oyedepo, J. A., Ojekunle, Z. O., Alo, O. M., Oyeniran, A. A., y Taiwo, O. T. (2016). Bioremediation of industrially contaminated soil using compost and plant technology. *Journal of Hazardous Materials*, 304, 166-172.
- Talavera, O., Armienta, M. A., Abundis, J. G., y Mundo, N. F. (2006). Geochemistry of leachates from the El Fraile sulfide tailings piles in Taxco, Guerrero, Southern Mexico. *Environmental Geochemistry and Health*, 28(3), 243-255.
- Tarafdar, J. C., y Jungk, A. (1987). Phosphatase activity in the rhizosphere and its relation to the depletion of soil organic phosphorus. *Biology and Fertility of Soils*, 3(4), 199-204.
- Tarafdar, J. C., y Claassen, N. (1988). Organic phosphorus compounds as a phosphorus source for higher plants through the activity of phosphatases produced by plant roots and microorganisms. *Biology and Fertility of Soils*, 5(4), 308-312.
- Trejo, J. A. V. (2002). Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Instituto Nacional de Ecología. Recuperado de <http://www.inecc.gob.mx/descargas/publicaciones/372.pdf>
- Turner, B. L., Hopkins, D. W., Haygarth, P. M., y Ostle, N. (2002). β -Glucosidase activity in pasture soils. *Applied Soil Ecology*, 20(2), 157-162.
- United Nations Environment Programme (UNEP). (2001). Appel for Mining. Recuperado de <http://www.unep.fr/shared/publications/pdf/WEBx0055xPA-APELLminingEN.pdf>
- Vance, E. D., Brookes, P. C., y Jenkinson, D. S. (1987). An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(6), 703-707.
- Vinhal, I. C., Wangen, D. R. B., Ferreira, A. D. S., Corrêa, G. F., y Wendling, B. (2010). Microbial and enzymatic activity in soil after organic composting. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 34(3), 757-764.
- Wallenstein, M. D., y Weintraub, M. N. (2008). Emerging tools for measuring and modeling the in situ activity of soil extracellular enzymes. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2098-2106.
- Wardle, D. A., y Ghani, A. (1995). A critique of the microbial metabolic quotient (qCO₂) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. *Soil Biology and Biochemistry*, 27(12), 1601-1610.
- Yan, T., Yang, L., y Campbell, C. D. (2003). Microbial biomass and metabolic quotient of soils under different land use in the Three Gorges Reservoir area. *Geoderma*, 115(1), 129-138.
- Ye, Z. H., Shu, W. S., Zhang, Z. Q., Lan, C. Y., y Wong, M. H. (2002). Evaluation of major constraints to revegetation of lead/zinc mine tailings using bioassay techniques. *Chemosphere*, 47(10), 1103-1111.

- Zhang, Q. Z., Dijkstra, F. A., Liu, X. R., Wang, Y. D., Huang, J., y Lu, N. (2014). Effects of biochar on soil microbial biomass after four years of consecutive application in the north China plain. *PloS one*, 9(7).
- Zimmerman, A. R., Gao, B., y Ahn, M. Y. (2011). Positive and negative carbon mineralization priming effects among a variety of biochar-amended soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(6), 1169-1179.

11. ANEXO

Tabla 11. Medias (\pm error estándar) de las variables indicadoras de actividad microbiana.

Variables	T _{inicial}				Exp. en microcosmos				Exp. en mesocosmos			
	J	C	B	M	J	C	B	M	J	C	B	M
C-CO ₂ ($\mu\text{g C g}^{-1}$)					596 (17.4)	946 (9.78)	548 (7.40)	749 (11.8)				
qCO ₂					19.7 (3.70)	9.10 (0.45)	9.12 (1.14)	8.20 (1.19)				
BG ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$)	0.08 (0.01)	0.05 (0.01)	0.04 (0.01)	0.07 (0.02)	0.18 (0.02)	0.04 (0.01)	0.09 (0.01)	0.07 (0.01)	0.16 (0.05)	0.11 (0.04)	0.05 (0.01)	0.12 (0.06)
FOS ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$)	0.25 (0.02)	0.14 (0.01)	0.13 (0.02)	0.10 (0.02)	0.16 (0.06)	0.09 (0.01)	0.05 (0.01)	0.10 (0.01)	1.48 (0.02)	0.83 (0.06)	0.51 (0.05)	0.84 (0.11)
PFO ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{h}^{-1}$)	0.15 (0.04)	0.01 (0.02)	0.09 (0.02)	0.06 (<0.01)	0.13 (0.02)	0.34 (0.08)	0.36 (0.03)	0.06 (0.03)	0.06 (0.01)	0.37 (0.13)	0.17 (0.07)	0.34 (0.09)
DHG ($\mu\text{g TPF g}^{-1}\text{d}^{-1}$)	1.97 (0.41)	4.84 (1.93)	1.74 (0.42)	5.23 (1.86)	3.67 (0.92)	8.15 (1.51)	5.59 (1.23)	8.11 (1.14)	6.58 (1.22)	46.9 (3.40)	39.0 (3.39)	20.8 (2.78)
C _{mic} ($\mu\text{g C g}^{-1}$)	56.5 (8.83)	59.0 (13.8)	41.6 (3.74)	57.8 (6.05)	34.5 (5.80)	105 (4.88)	63.0 (6.47)	98.1 (12.2)	79.7 (18.4)	263 (31.6)	197 (35.3)	274 (13.1)
AEE BG ($\mu\text{mol } \mu\text{gC}^{-1}\text{h}^{-1}$)	0.002 (<0.001)	0.001 (<0.001)	0.001 (<0.001)	0.001 (<0.001)	0.006 (0.001)	0.0004 (<0.0001)	0.002 (<0.001)	0.001 (<0.001)	0.002 (<0.001)	0.0005 (<0.0001)	0.0002 (<0.0001)	0.0005 (<0.0001)
AEE FOS ($\mu\text{mol } \mu\text{gC}^{-1}\text{h}^{-1}$)	0.005 (<0.001)	0.003 (0.001)	0.003 (<0.001)	0.002 (<0.001)	0.004 (0.001)	0.001 (<0.001)	0.001 (<0.001)	0.001 (<0.001)	0.023 (0.005)	0.003 (<0.001)	0.003 (<0.001)	0.003 (<0.001)
AEE PFO ($\mu\text{mol } \mu\text{gC}^{-1}\text{h}^{-1}$)	0.003 (<0.001)	0.002 (<0.001)	0.002 (<0.001)	0.001 (<0.001)	0.004 (<0.001)	0.003 (<0.001)	0.006 (0.001)	0.001 (<0.001)	0.001 (<0.001)	0.002 (<0.001)	0.001 (<0.001)	0.001 (<0.001)
AEE DHG ($\mu\text{g TPF g}^{-1}\text{d}^{-1}\mu\text{gC}^{-1}$)	0.04 (0.01)	0.09 (0.03)	0.04 (0.01)	0.09 (0.03)	0.13 (0.05)	0.08 (0.01)	0.09 (0.02)	0.09 (0.02)	0.10 (0.03)	0.19 (0.02)	0.23 (0.05)	0.08 (0.01)