



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE
FACULTAD DE AGRONOMÍA E INGENIERÍA FORESTAL
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
MAGÍSTER EN RECURSOS NATURALES**

**EVALUACIÓN DE LA EFICIENCIA DEL BIOCARBÓN GENERADO A PARTIR DE
BIOMASA DE MACROALGAS ENRIQUECIDAS CON METALES PARA LA
REMEDIACIÓN DE SUELOS DEGRADADOS QUÍMICAMENTE**

Tesis presentada como requisito para optar al grado de

Magíster en Recursos Naturales

por:

Jessica Alexandra Machado Cuzco

Comité de Tesis

Profesor Guía: Dra. Rosanna Ginocchio.

Profesores Informantes:

Dr. Alexander Neaman – PUCV.

Dr. Eduardo Arellano – PUC.

Junio 2018

Santiago - Chile

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado gracias a los aportes del Proyecto CONICYT FB-0002-2014 (Center of Applied Ecology and Sustainability, CAPES UC). Corresponde a un estudio complementario al proyecto FIC Algas 2015-2016, liderado por la investigadora Loretto Contreras de la Universidad Andrés Bello, quienes aportaron con el biocarbón y los suelos usados en el presente estudio.

Agradezco de forma especial a la profesora Rosanna Ginocchio por su constante preocupación, por las facilidades y oportunidades brindadas a lo largo del desarrollo de la investigación; a Luz María de la Fuente por su paciencia y por la buena disposición en el uso de las instalaciones del laboratorio y a mis compañeras, que en todo momento me apoyaron de una u otra forma durante mi estadía en el magíster.

Por otro lado, mi agradecimiento inmenso a mis padres, Rosa y Wilson, por confiar en mí y brindarme la oportunidad de cumplir mi sueño. No me alcanzarán las palabras para agradecerles por su infinito amor, todo lo enseñado y ser mi apoyo incondicional en cada etapa de mi vida. A mis hermanos y cuñada por su absoluto apoyo y siempre estar alentándome; gracias por regalarme incontables momentos de alegría y felicidad.

*A Dios, a mis padres, familia y amigos
por su paciencia, apoyo y motivación incondicional.*

ÍNDICE GENERAL

ABSTRACT.....	5
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
2.1 Área de estudio y toma de muestra.....	9
2.2 Enmiendas y sustratos experimentales.....	11
2.2.1 Producción y caracterización del biocarbón.....	11
2.2.2 Caracterización del humus.....	14
2.3 Diseño experimental.....	15
2.4 Análisis estadístico.....	17
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
3.1 Características fisicoquímicas de los sustratos experimentales.....	18
3.2 Química del agua de poro de los sustratos experimentales.....	20
3.3 Respuestas de las plantas a los sustratos experimentales.....	27
3.3.1 Biomasa seca.....	27
3.3.2 Biomasa fresca.....	30
3.3.3 Relación de la biomasa con las características químicas del agua de poro.....	33
3.4 Consideraciones finales.....	34
4. CONCLUSIONES.....	36
5. RESUMEN.....	37
6. BIBLIOGRAFÍA.....	38
7. ANEXOS.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características fisicoquímicas generales de los suelos de estudio (sitio contaminado C- y de referencia C+) recolectados en el valle de Puchuncaví, centro de Chile, Región de Valparaíso.....	11
Tabla 2. Características fisicoquímicas del biocarbón generado a partir de la biomasa macroalgal enriquecida con metales, generada en la Bahía de Quintero	13
Tabla 3. Efecto tampón del biocarbón para el suelo acidificado de los Maitenes, valle de Puchuncaví, Región de Valparaíso.....	13
Tabla 4. Características fisicoquímicas del humus comercial (ANASAC) usado en el presente estudio.....	14
Tabla 5. Controles (C- y C+) y tratamientos experimentales utilizados para evaluar la eficacia del biocarbón como enmienda orgánica para la neutralización y la inmovilización in situ de metales en las capas superiores del suelo degradado químicamente del Valle de Puchuncaví, centro de Chile.....	15
Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos generales de los sustratos experimentales al comienzo del ensayo (semana 1). Códigos de los tratamientos según la Tabla 5.....	20
Tabla 7. Evolución a través del tiempo del pH, la conductividad eléctrica (CE) y la actividad del ión cobre (pCu^{2+}) en muestras de agua de poro tomadas de los sustratos experimentales.....	22
Tabla 7. Comparaciones por medición (Post hoc Tuckey).....	25
Tabla 9. Comparaciones por tratamiento Post Hoc (Tuckey).....	26
Tabla 8. Correlaciones simples por variables químicas del agua de poro.....	27
Tabla 9. Correlaciones simples por variables químicas del agua de poro y biomasa seca del vástago y raíz, a la cuarta semana del ensayo experimental.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de las áreas de estudio.....	10
Figura 2. Variación de la biomasa seca del vástago de <i>Lolium perenne</i> según el tratamiento (ps, peso seco). Se encuentran indicados los valores medios y las desviaciones estándar (n=30). Los códigos de los tratamientos se presentan de acuerdo a la Tabla 2. Diferentes letras indican la diferencia significativa entre los tratamientos (prueba de Tuckey, $p<0,05$).....	28
Figura 3. Variación de la biomasa seca de la raíz de <i>Lolium perenne</i> según el tratamiento (ps, peso seco). Se encuentran indicados los valores medios y las desviaciones estándar (n=30). Los códigos de los tratamientos se presentan de acuerdo a la Tabla 2. Diferentes letras indican la diferencia significativa entre los tratamientos (prueba de Tuckey, $p<0,05$).....	29
Figura 4. Variación de la biomasa fresca del vástago de <i>Lolium perenne</i> según el tratamiento. Se encuentran indicados los valores medios y las desviaciones estándar (n=30). Los códigos de los tratamientos se presentan de acuerdo a la Tabla 2. Diferentes letras indican la diferencia significativa entre los tratamientos (prueba de Tuckey, $p<0,05$).....	30
Figura 5. Variación de la biomasa fresca de la raíz de <i>Lolium perenne</i> según el tratamiento. Se encuentran indicados los valores medios y las desviaciones estándar (n=30). Los códigos de los tratamientos se presentan de acuerdo a la Tabla 2. Diferentes letras indican la diferencia significativa entre los tratamientos (prueba de Tuckey, $p<0,05$).....	31

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Caracterización de exclusión de datos.....	43
Anexo 2. Prueba Friedman.....	43
Anexo 3. Medidas de tendencia central de la biomasa seca del vástago y raíz.....	44
Anexo 4. Post hoc (Tuckey) biomasa seca (g).....	44
Anexo 5. Prueba Post hoc (Tuckey) biomasa fresca (g).....	45
Anexo 6. Prueba Post hoc (Tuckey) por tratamientos de la Biomasa Fresca.....	45
Anexo 7. Volumen agua de poro.....	46

ABSTRACT

At Quintero Bay, a scientific-technological study was carried out for the removal of pollutants from coastal marine waters through macroalgae cultivation; biochar was produced from pollutant-rich macroalgae biomass, as other traditional uses were restricted. This determines an opportunity for having a locally available soil amendment for remediation of chemically degraded soils of the Puchuncaví Valley, which require large-scale remediation actions. The main objective of the present study was to evaluate, under laboratory conditions, the efficacy of this biochar, with emphasis on their both soil neutralizing and copper immobilization capacities. Chemically degraded soil of Los Maitenes (C-) area was conditioned with biochar (B) or humus (H) the mixture of biochar plus humus (BH) and a reference soil from Maitencillo (C+) area. One-liter experimental pots were filled with experimental substrates and kept in a plant growth room for 4 weeks, under irrigation, for their chemical stabilization. At the beginning of the fifth week, all pots were sown with 0.6 g of seeds of *Lolium perenne* and maintained for other 11 weeks. Results showed that biochar-amended degraded soil reduced acidity (B = 7.44, BH = 7.55) and significantly decreased the exchangeable Cu fraction. Positive effects of BH and H in degraded soil increased plant biomass production, but B-amended degraded soils resulted in lower biomass due to high electrical conductivity. Results of the present study indicate that the use of biochar, mixed with humus, allow proper remediation of chemically degraded soils of the Puchuncaví valley, at least in the short term.

Keywords: remediation, chemically degraded soil, organic amendment, copper.

1. INTRODUCCIÓN

En el Valle de Puchuncaví, ubicado en la zona costera de Chile central, se encuentra el Complejo Industrial Ventanas. Este complejo industrial operó durante el período de 1964 a 1992 en ausencia de regulaciones ambientales, emitiendo altas concentraciones de dióxido de azufre (SO₂) y material particulado (MP) rico en cobre (Cu) y otros metales y metaloides (arsénico, As), provocando una grave contaminación ambiental (Environmental Resources Management, 1993). Las elevadas concentraciones de SO₂ junto a las partículas en suspensión fueron dispersadas por el viento y la lluvia y depositadas en los suelos aledaños al punto de emisión (Ginocchio, 2000; Neaman et al., 2009). Estas emisiones causaron una fuerte deposición ácida y de metales/metaloides, provocando pérdida de la biodiversidad, enriquecimiento de los suelos con metales/metaloides generando el empobrecimiento de la materia orgánica y macronutrientes en los suelos (Ginocchio, 2000), además de su acidificación a un pH de 3.5 – 4.7 (Ginocchio et al., 2004; Ginocchio et al., 2013; González & Neaman, 2015). Varios han sido los estudios realizados para caracterizar los ecosistemas degradados del Valle de Puchuncaví (Ginocchio, 2000; Ginocchio et al., 2004; De Gregori et al., 2003; Neaman et al., 2009; Cárcamo et al., 2012; Ginocchio et al., 2013; González & Neaman, 2015)

Con la entrada en vigencia de la normativa ambiental en la década de los 90s y la implementación del “Plan de Descontaminación del Complejo Industrial Ventanas”, que requirió la instalación de una red de monitoreo de la calidad del aire, las empresas involucradas iniciaron acciones correctivas logrando una mejora en las tecnologías utilizadas. Así, a partir de 1999 se empezó a controlar las emisiones atmosféricas de SO₂ y material particulado y desde el 2003 se logró cumplir con la regulación primaria de calidad del aire (González et al., 2014). Si bien hasta la fecha se han logrado reducir las emisiones, aún se requieren acciones de remediación ambiental a gran escala, y de bajo costo, para hacer frente a los efectos ambientales acumulativos que todavía siguen latentes en la zona.

Se sabe que los efectos de la contaminación han sido diversos, afectando al suelo, aire y agua, y reduciendo la biodiversidad en los ecosistemas, con la consecuente

disminución de ingresos económicos ligados a ésta (Comisión de Recursos Naturales, Bienes Nacionales y Medio Ambiente, 2011). Sin embargo, los efectos no sólo son económicos directos, sino que también hay una disminución del valor económico de las actividades recreativas que reportan ingresos indirectos como las actividades turísticas y de recreación (Comisión de Recursos Naturales, Bienes Nacionales y Medio Ambiente, 2011). Entre los años 2012 y 2013 el Ministerio del Medio Ambiente (MMA, 2013) realizó un estudio sobre el estado ambiental de la zona. Específicamente, se realizó una caracterización fisicoquímica de los principales residuos industriales líquidos (RILES) de descarga, emisiones atmosféricas, muestras de agua de mar y sedimentos, composición y abundancia de la biota marina, además de la concentración de diversos elementos (Al, Fe, Mo, Zn, Ni, Cu, As, Cd, Cr y Hg). Finalmente, entre las conclusiones de este estudio se cita que el Cu descargado a la Bahía de Quintero se acumula de forma importante en los sedimentos y posteriormente en la biota, experimentando un proceso de bioconcentración en las especies evaluadas. En este contexto, los reportes anteriormente mencionados dan cuenta de una región contaminada, la que requiere soluciones concretas y una evidente necesidad de tomar medidas con el fin de disminuir los niveles de contaminación tanto en la columna de agua, como en el aire y en el suelo.

Dentro del marco de la Estrategia Regional de Innovación de la Región de Valparaíso, y con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los habitantes de la zona costera de Quintero y Puchuncaví, que plantea generar hasta el año 2020 “una región reconocida por la gestión innovadora de sus recursos estratégicos para la competitividad económica y el desarrollo sostenible de sus territorios”, nace el proyecto FIC Algas 2015-2016, liderado por la investigadora Loretto Contreras de la Universidad Andrés Bello, denominado “Cultivo del alga parda *Macrocystis pyrifera* en la zona de Quintero y Puchuncaví: Evaluación de la productividad y potencial uso para biorremediación de metales pesados y compuestos orgánicos”. Este proyecto se enfocó en la problemática de la contaminación en aguas marinas costeras en la zona de Quintero y Puchuncaví, tanto por metales como por compuestos orgánicos. En este contexto, el cultivo de macroalgas marinas ha sido destacado como un programa de acción de largo plazo, que permitirá capturar contaminantes del ambiente, aumentar la biodiversidad de la zona costera e introducir una alternativa productiva para los pescadores artesanales (Contreras et al., 2014).

Con el desarrollo de este proyecto, se ha podido establecer que es posible el cultivo de *Macrocystis pyrifera* en la zona costera de Quintero y Puchuncaví; macroalga que tiene la capacidad de bioconcentrar metales y generar beneficios en la biodiversidad marina (Contreras et al., 2014). Sin embargo, la pregunta que surge es ¿qué hacemos con estas algas una vez cosechadas?. Al respecto, se han realizado varios análisis preliminares de diferentes alternativas de uso para esta especie, considerando que la elevada concentración de metales en sus talos limita su uso para consumo humano o para las especies de herbívoros marinos de interés comercial (Contreras et al., 2014). Ante esta situación nace la idea de transformar las algas cultivadas en biocarbón, el cual tiene aplicación en diversas áreas, siendo una de ellas como mejorador de suelos degradados o para la adsorción de contaminantes en procesos industriales (Contreras et al., 2014; Xu et al., 2017; O'Connor et al., 2018).

El término biocarbón (biochar en Inglés), es un término científico recientemente creado. Varias definiciones se han presentado, como por ejemplo que consiste en un producto rico en carbono, que resulta de la pirólisis de la biomasa derivada de plantas o de animales, pero más comúnmente de madera, en un ambiente restringido de oxígeno (Lehmann y Joseph, 2009; Shackley et al., 2012). Sin embargo, la Iniciativa Internacional de Biocarbón (IBI por sus siglas en Inglés) estandarizó la definición como “un material sólido obtenido de la conversión termoquímica de biomasa en un entorno con limitación de oxígeno” (IBI, 2012). Cada vez es más reconocido que el biocarbón puede ser utilizado como una herramienta para la modificación del suelo a largo plazo y una alternativa para el reciclaje de residuos (Ahmad et al., 2014).

Su uso como enmienda de suelos se ha popularizado debido a que ayuda a mantener la fertilidad del suelo, a remediar sitios contaminados con metales, al secuestro de carbono y a la reducción de la emisión de gases con efecto invernadero (Kim et al., 2016; Novak et al., 2016). La atención se centra debido a sus propiedades únicas como la resistencia química, alta porosidad, gran área superficial, alta capacidad de intercambio catiónico y riqueza en el contenido de nutrientes, todo lo que ayuda a su capacidad de sorción; además, actúa promoviendo el crecimiento de la vegetación (Gao et al., 2017). La estabilidad del biocarbón y sus propiedades fisicoquímicas dependen principalmente de la materia prima de la cual se origina y de la temperatura de pirólisis, las cuales desempeñan un papel crucial en los procesos y funciones del suelo, así como en las

comunidades microbianas (Cho et al., 2017a; Cho et al. 2017b; Awad et al., 2018; Xu et al., 2017). Un número cada vez mayor de estudios han demostrado que el biocarbón puede contribuir a la inmovilización de metales en suelos degradados químicamente debido a su efecto recalcitrante y además por la presencia en su superficie de grupos funcionales como los hidroxilos y carboxilos (Qian y Chen, 2013; Qian et al., 2016; Xu et al., 2017).

La potencialidad de generar biocarbón a partir de la biomasa macroalgal contaminada que sería generada a partir de los cultivos realizados en las aguas costeras de la Bahía de Quintero, para la limpieza de sus aguas, constituiría una fuente local e interesante enmienda orgánica con potencial de uso en la remediación de los suelos degradados químicamente del Valle de Puchuncaví. Sin embargo, se requiere investigar su eficacia, con principal énfasis en la inmovilización *in situ* de los metales acumulados, así como en la mejora de las propiedades fisicoquímicas (i.e pH), nutricionales y microbianas de los suelos degradados. La conversión de las macroalgas en biocarbón, mediante el proceso de pirólisis, ofrece una alternativa potencialmente viable que promete beneficios ambientales y económicos. Por lo tanto, en el presente estudio se llevó a cabo una evaluación de laboratorio sobre la eficacia del biocarbón generado a partir de la biomasa macroalgal contaminada como posible enmienda de los suelos ácidos y ricos en metales del valle de Puchuncaví.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se basó en la metodología utilizada por Cárcamo et al. (2012), por la similitud de los objetivos de este trabajo con los presentados en ese reciente estudio; es decir, el analizar los efectos de una enmienda orgánica sobre un suelo degradado químicamente.

2.1 Área de estudio y toma de muestra

Muestras compuestas de suelo se obtuvieron en la zona del Valle de Puchuncaví (Fig. 1), ubicado en la zona costera del centro de Chile (Región de Valparaíso). Para efectos del estudio se recolectó un lote de 80 kg de suelo superficial degradado químicamente (0-30 cm) en el sector de Los Maitenes (32°46'12" S, 71°28'19" O), localizado a 2 km al sureste de la Fundación Ventanas. Este suelo fue utilizado como control negativo (C-).

Una cantidad similar de suelo se recolectó en el sector de Maitencillo (0-30 cm) (localidad ubicada 11 km al norte de Los Maitenes), el que fue usado como sitio de referencia o suelo control positivo (C+). Se tomó este suelo como referencia debido a que es un suelo que posee características similares al suelo de Los Maitenes en relación a la textura y materia orgánica, pero no ha sido afectado por los efectos de la contaminación (Muena et al., 2010). Se recolectaron muestras compuestas de suelo superficial representativas, en cada sitio, a través de palas de acero inoxidable. Las muestras de suelo se guardaron en bolsas plásticas selladas, se transportaron al laboratorio y almacenaron por un corto período de tiempo en la Sala de Suelos y Leñosas de la Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal (FAIF) de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Sus características fisicoquímicas se detallan en la Tabla 1. Los análisis de estos suelos fueron realizados por el Laboratorio de Suelos y Análisis Foliar de la Facultad de Ciencias Agronómicas y de los Alimentos de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Ambos suelos fueron tamizados a < 2 mm con malla de nylon y secados en estufa a 60° C por 24 horas. Posteriormente, fueron homogenizados manualmente en recipientes plásticos y almacenadas hasta análisis.



Figura 1. Ubicación de las áreas de colecta de los suelos usados en el presente estudio. Los Maitenes (📍) sitio degradado químicamente (Control Negativo, C-) y Maitencillo (★) sitio de referencia (Control Positivo, C+), ambos en la zona costera de la Región de Valparaíso.

Tabla 1. Características fisicoquímicas generales de los suelos de estudio (sitio contaminado C- y de referencia C+) recolectados en el valle de Puchuncaví, centro de Chile, Región de Valparaíso.

Parámetro	Sitio de Referencia (Maitencillo) (C+)	Suelo degradado químicamente (Los Maitenes) (C-)
Clase Textural	Arenosa	Arenoso-Franca
Arcilla (%)	5	8
Limo (%)	5	7
Arena (%)	90	85
Densidad Aparente (g cm ⁻³)	1,61	1,61
pH (a 25° C)	5,78	4,10
Conductividad Eléctrica (CE) (dS m ⁻¹)	1,00	0,18
Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) (cmol kg ⁻¹)	6,15	5,36
Materia Orgánica (%)	1,05	0,73
N Disponible (mg kg ⁻¹)	12,9	9,52
P Disponible (mg kg ⁻¹)	17,7	33,2
K Intercambiable (mg kg ⁻¹)	169	179
Cu Total (mg kg ⁻¹)	27,6	354
Cd Total (mg kg ⁻¹)	<0,004	1,24
Pb Total (mg kg ⁻¹)	32,4	33,9
As Total (mg kg ⁻¹)	6,75	16,1
Zn Total (mg kg ⁻¹)	81,2	174

2.2 Enmiendas y sustratos experimentales

2.2.1 Producción y caracterización del biocarbón

El principal objetivo del presente estudio fue evaluar la eficiencia del biocarbón generado a partir de la biomasa de la macroalga *Macrocystis pyrifera* (conocida comúnmente como Huiro Canutillo), como enmienda orgánica, la cual fue cultivada durante 120 días en las aguas costeras de la Bahía de Quintero, en dos Áreas de Manejo y Explotación de Recursos Bentónicos (AMERBs), ubicadas en las caletas de Horcón (32°42'39"S 71°29'22"O) y Maitencillo (32°38'51"S 71°26'10"O), Región de Valparaíso.

La producción de biocarbón a partir de la biomasa enriquecida con metales se llevó a cabo en un horno diseñado en la Universidad de La Frontera a través de distintos procesos de pirólisis lenta, en un reactor de acero inoxidable acompañado de dos termocuplas y un software para controlar parámetros de tiempo y temperatura. Partiendo desde la temperatura ambiente, las temperaturas finales para la obtención del biocarbón fueron de 300, 450 y 600° C. El proceso se llevó a cabo con flujo constante de 0,5 L min⁻¹ de N₂, para el desplazamiento de aire. Las velocidades de calentamiento para este proceso fueron entre 20 y 50° C por hora. El producto final obtenido se almacenó en bolsas de polipropileno selladas. El proceso completo para la obtención del biocarbón se realizó en el Centro de Manejo de Residuos y Bioenergía de la Universidad de la Frontera (Araya, 2016).

Para efectos del presente estudio se empleó como enmienda orgánica el biocarbón cuya temperatura final de pirólisis fue de 450° C; se seleccionó por su mayor área superficial, pH alcalino y mayor capacidad de intercambio catiónico. Las características fisicoquímicas de los biocarbones producidos se detallan en la Tabla 2 estos resultados fueron extraídos del estudio de Araya (2016).

La tasa de aplicación del biocarbón que se empleó para llevar el suelo de Los Maitenes a un pH 7,0 fue de 22,3 ton ha⁻¹ (base seca) (Tabla 3). Este resultado se determinó mediante pruebas de laboratorio, las cuales sugieren que este valor actúa sobre el suelo como efecto tampón; para este análisis se incubaron por 24 horas a 60° C 10 mL de muestra y 25 mL de nitrato de potasio (KNO₃).

Tabla 2. Características fisicoquímicas del biocarbón generado a partir de la biomasa macroalgal enriquecida con metales, generada en la Bahía de Quintero.

Parámetro	Temperatura pirolisis (° C)		
	300	450	600
Volumen de poros (cm ³ g ⁻¹)	0,01	0,01	0,01
Área Superficial (m ² g ⁻¹)	2,51	3,31	1,75
Diámetro de Poro (Å)	24,74	10,50	24,94
pH	9,80	11,00	11,00
Conductividad Eléctrica (dS m ⁻¹)	25,74	27,44	28,08
Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) (meq 100g ⁻¹)	34,70	40,20	35,00
C (%)	28,70	23,90	26,70
H (%)	1,70	3,01	0,95
O (%)	66,40	71,10	70,75
N (%)	3,20	2,00	1,60

Fuente: (Araya, 2016)

Tabla 3. Efecto tampón del biocarbón para el suelo acidificado de los Maitenes, valle de Puchuncaví, Región de Valparaíso.

% Biocarbón (p/p)	pH
0,00	4,06
0,50	5,93
0,75	6,56
1,00	6,69
1,25	6,74
1,50	7,03
2,00	7,28

2.2.2 Caracterización del humus

En forma complementaria, se utilizó humus comercial (ANASAC) como otra enmienda de prueba capaz de aportar con nutrientes deficientes en los suelos. Las características del humus se entregan en la Tabla 4. Además de estar degradados químicamente, los suelos de Los Maitenes también se encuentran degradados físicamente (Neaman et al., 2012). Por ello, se probó la incorporación de humus como una enmienda que permita mejorar los contenidos de macronutrientes y de materia orgánica del suelo degradado, además de reducir la biodisponibilidad de los metales (Wu, et al., 2017). Se aplicó una sola dosis de esta enmienda al suelo de Los Maitenes, correspondiente a 67,05 ton ha⁻¹ (base seca), definida en base a estudios previos realizados en la zona (Ginocchio et al., 2000; Ginocchio et al., 2004; Folchi, 2006; Goecke, et al., 2011; Neaman et al., 2012).

Para probar la eficacia del biocarbón y del humus en la neutralización e inmovilización *in situ* de metales en las capas superiores contaminadas de Los Maitenes, 3 tratamientos experimentales y dos controles (positivo y negativo), replicado seis veces, se definieron como se describe en la Tabla 5.

Tabla 4. Características fisicoquímicas del humus comercial (ANASAC) usado en el presente estudio.

Parámetro	Valor
Densidad Aparente (g cm ⁻³)	1,04
pH (a 25°C)	7,77
Conductividad Eléctrica (dS m ⁻¹)	6,53
Materia Orgánica (%)	14,1
Relación C/N	10,70
N-Nitrato (mg kg ⁻¹)	118
N-Amonio (mg kg ⁻¹)	21,70

Tabla 5. Controles (C- y C+) y tratamientos experimentales utilizados para evaluar la eficacia del biocarbón como enmienda orgánica para la neutralización y la inmovilización *in situ* de metales en las capas superiores del suelo degradado químicamente del Valle de Puchuncaví, centro de Chile.

Código de Tratamiento	Biocarbón (B)	Humus (H)
	(%) ^a	(%) ^a
C+	0	0
C-	0	0
B	1	0
H	0	3
BH	1	3

C- suelo degradado químicamente Los Maitenes; C+ suelo de referencia Maitencillo; B, Biocarbón en 22,3 ton ha⁻¹ (1%); H, Humus en 67,05 ton ha⁻¹ (3%); BH, Biocarbón + Humus.

^aEn base al peso seco

2.3 Diseño experimental

Para probar la eficacia de las enmiendas seleccionadas para la inmovilización *in situ* de metales y la neutralización del suelo degradado químicamente de Los Maitenes, se llevó a cabo un ensayo bajo condiciones controladas de invernadero. Se prepararon seis réplicas de los tres tratamientos experimentales y de los dos controles (positivo y negativo) (total 30 macetas). Las dosis usadas se presentan en la Tabla 5; se utilizaron 22,3 ton ha⁻¹ de biocarbón (B), 67,05 ton ha⁻¹ de Humus (H) y una mezcla de los dos (BH) en las mismas dosis indicadas. Se prepararon 6 kg de cada sustrato experimental, añadiendo las dosis mencionadas en recipientes de polietileno. Se homogenizaron con un rodillo automático (Tecco YGR) a 11 revoluciones por minuto, durante 20 minutos y se distribuyeron en recipientes de plástico de 1 litro con drenaje en su base; se llenó cada recipiente hasta completar 800 gramos de sustrato.

Se utilizaron los sustratos restantes para determinar la capacidad de campo (CC) por el método de Klute (1986) y las características fisicoquímicas generales. Para determinar

la CC, se emplearon tubetes plásticos previamente pesados. La parte inferior de los tubetes se llenó con algodón sintético también pesado y luego se llenaron con los sustratos experimentales y los controles, con tres réplicas cada uno. Los tubetes fueron dispuestos en una gradilla y sumergidos dentro de un recipiente con agua desionizada, permitiendo que el agua ascendiera por el sustrato por efecto de la capilaridad hasta que la superficie estuviese saturada. Entonces se removió el recipiente con agua de manera de permitir el drenaje por gravedad. Se cubrió luego la parte superior de los tubetes con film plástico, para evitar la evaporación. Los tubetes se dejaron drenar por un período de 12 horas para posteriormente remover el algodón y volver a pesarlos, esta vez con los sustratos a 100% de capacidad de campo. Se consideró la diferencia del peso entre el tubete al 100% de capacidad de campo con el peso del tubete con el sustrato seco como la cantidad de agua que tiene el sustrato cuando se encuentra a 100% de capacidad de campo. Se utilizó este dato para determinar el volumen de riego del 70% de capacidad de campo para cada recipiente experimental.

Las macetas experimentales se colocaron al azar sobre los mesones y se mantuvieron en el invernadero de la FAIF, bajo condiciones controladas de temperatura ($26 \pm 2^\circ \text{C}$), durante 11 semanas. Las macetas se aleatorizaron una vez a la semana, para evitar efectos de borde. Durante las primeras semanas (fase de estabilización) se comprobó diariamente la humedad del suelo, pesando cada maceta con una balanza digital de dos dígitos; se añadió agua desionizada para reponer el volumen faltante necesario para mantener cada sustrato al 70% de capacidad de campo. Al comienzo de la quinta semana, se sembraron todas las macetas con 0,6 g de semillas de *Lolium perenne* variedad Belinda debido a que esta especie se ha utilizado con frecuencia para probar la toxicidad de los metales y la acidez en suelos contaminados (Arienzo et al., 2004). Las semillas se cubrieron con aproximadamente 1 cm del mismo sustrato experimental y se mantuvo el riego al 70% de la capacidad de campo, controlando día por medio.

Durante la 1^a, 4^a y 11^a semana del ensayo se tomaron alícuotas de agua de poro del suelo (5-7 mL) de todas las macetas experimentales a través de muestreadores de agua de poro Rhizon® de 5 cm de longitud (Rhizosphere Research Products, Wageningen), siguiendo la metodología descrita por Vulkan et al. (2000). Las muestras de agua de poro del suelo se mantuvieron en viales de polietileno (15 mL), previamente lavados con

ácido. Las determinaciones de pH, conductividad eléctrica (CE) y cobre iónico (Cu^{2+}) se realizaron en las muestras de agua de poro, con un electrodo combinado de pH (Sensorex 120C), un conductímetro (Schott Gerate CG858) y un electrodo selectivo ion Cu (Orion, modelo 9629 BN); el electrodo específico de ion Cu se calibró usando una solución de ácido diaminoacético (Rachou et al., 2007). A partir de los valores obtenidos de Cu^{2+} , la actividad de Cu o pCu^{2+} se calcularon de acuerdo con la ecuación $\text{pCu}^{2+} = -\log [\text{Cu}^{2+}]$.

Al cabo de la 11ª semana finalizó el ensayo experimental. Se cosechó la biomasa aérea de cada maceta a ras de suelo, se lavaron los vástagos con agua desionizada, se secó el exceso de agua con papel absorbente y se pesó la biomasa aérea fresca. Las macetas fueron cortadas longitudinalmente en mitades para separar manualmente las raíces con la ayuda de un tamiz; posteriormente se procedió a lavar las raíces de cada maceta con agua desionizada, secarlas con papel secante y pesarlas para obtener el peso de la biomasa fresca radicular. Tanto la biomasa radicular como aérea se secaron a 45°C en estufa de aire forzado por 72 horas, hasta un peso constante, para posteriormente registrar su peso seco.

2.4 Análisis estadístico

Para la caracterización del pH, CE y pCu^{2+} en las aguas de poro se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión. Para probar los efectos del tratamiento y el tiempo se empleó el análisis de varianza de dos vías (ANOVA). La prueba de Friedman fue empleada para contrastar las medias del pH, CE y pCu^{2+} de cada tratamiento a lo largo del período de evaluación y la prueba Post Hoc de Tuckey para encontrar las diferencias entre tratamientos y semanas ($\alpha = 0,05$).

Se utilizó ANOVA de una vía para contrastar las biomásas entre tratamientos (radiculares y aéreos). El coeficiente de correlación r de Pearson se utilizó para evaluar las correlaciones estadísticas entre las variables medidas en el agua de poro (pH, CE y pCu^{2+}) de la onceava semana, tiempo que finalizó el ensayo y las biomásas (aérea y radicular). Para poder utilizar pruebas paramétricas, los datos fueron corregidos para lograr normalidad mediante transformaciones logarítmicas ($x = \log_{10}(x + 1)$) (Zar, 1984). El procesamiento de los datos fue realizado mediante el programa estadístico SPSS 23.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Características fisicoquímicas de los sustratos experimentales

En la Tabla 6 se presentan las características de los sustratos experimentales en la primera semana de ensayo. La incorporación de las enmiendas (biocarbón y humus) en el suelo C- redujo en pequeñas cantidades las concentraciones totales de Cu, Zn y As, con efecto de dilución por mezcla (Tabla 6). La incorporación de humus permitió la neutralización de la acidez a un valor de pH de 6,1, resultado que se esperaba, pero superior al pH del suelo C+ (pH=5,7). La adición de biocarbón solo (B) o mezclado con humus (BH) dio como resultado valores de pH similares entre ellos (6,6), debido a las características alcalinas que caracterizan al biocarbón.

Diversos estudios han comprobado que el biocarbón mejora las propiedades físicas y químicas del suelo (Curaqueo et al., 2014; Obia et al., 2016; Amin et al., 2017), favoreciendo el aumento de la capacidad de intercambio catiónico, la capacidad de retención de agua, incrementando los nutrientes y reduciendo la lixiviación, permitiendo por lo tanto que estén disponibles para las plantas, favoreciendo inclusive la actividad microbiana (Al-Wabel et al., 2013; Amin et al., 2017; Godlewska et al., 2017; Lima et al., 2018). Todos los parámetros mencionados anteriormente son de importante relevancia para mejorar la calidad de los suelos contaminados y degradados como lo son los suelos del valle de Puchuncaví (Cárcamo et al., 2012). En la actualidad, la aplicación de biocarbón a los suelos degradados se centra en la mejora de ellos, como un adsorbente efectivo de contaminantes como los metales y como aporte a la mitigación del cambio climático por el secuestro de Carbono (Al-Wabel et al., 2013). La gran atención que ha ganado se debe a sus propiedades únicas, tales como resistencia química, alta porosidad, gran área superficial y su capacidad de sorción (Ding et al., 2017; Wu et al., 2017).

La estabilización del suelo con enmiendas orgánicas se ha estudiado mayormente como una opción para la remediación de sitios contaminados (Beiyuan et al., 2018; Feng et al., 2018). Es ampliamente conocido que el tratamiento de los suelos con biocarbón puede reducir la biodisponibilidad de ciertos contaminantes (O'Connor et al., 2018). Sin embargo, se ha demostrado que el biocarbón obtenido de algas marinas posee una alta capacidad de intercambio catiónico (CIC) y contenido de nutrientes intercambiables en

altas proporciones, en comparación con el biocarbón obtenido a partir de la materia prima lignocelulosa (Roberts et al., 2015). Es así como en este estudio se observan niveles mayores de macronutrientes disponibles en los suelos enmendados con biocarbón (Tabla 6).

La CIC del biocarbón indica la capacidad que presenta para absorber cationes como NH_4^+ y Ca^{2+} , que son nutrientes esenciales para las plantas. Por lo tanto, un biocarbón con un alto CIC puede disminuir las pérdidas por lixiviación de nutrientes de los suelos; en otras palabras, ejerce un efecto beneficioso al retener nutrientes en el suelo (Yu et al., 2017). Como se muestra en la Tabla 2, el biocarbón de la macroalga en estudio, tiene una CIC de $40,2 \text{ cmol kg}^{-1}$ lo que indica que a mayor CIC mayor aporte para retener e intercambiar nutrientes. En general, se esperaba un aumento en la CIC en los suelos tratados con biocarbón, debido al aumento del pH, tal como se indica en la literatura. Por ejemplo, en el estudio de Cha et al. (2016) se informa que la CIC aumentó cuando el pH aumentó de 5,0 a 8,5 y que la CIC fue negativa cuando el pH fue bajo, lo que se atribuye a la descarga de cationes unidos.

En el estudio de Roberts et al. (2015b) se demostró que los biocarbones de algas marinas contenían Al en cantidades muy bajas o no intercambiables, pero que presentaban valores elevados de cationes intercambiables como Ca, K, Mg y Na. Esta misma tendencia se evidencia en los resultados del presente estudio y mostrados en la Tabla 6, donde la cantidad de K presente en los suelos con B y BH superan 11 y 9 veces, respectivamente, al suelo de referencia (C+). Se establece una relación entre la CIC y el contenido de cenizas, lo que sugiere que los metales alcalinos y alcalinotérreos presentes en la biomasa promueven la formación de grupos funcionales superficiales que contienen oxígeno en el biocarbón resultante (Yu et al., 2017). Por lo tanto, el biocarbón producido a baja temperatura tiene más potencial para retener cationes fertilizantes como NH_4^+ y de ese modo mejorar su eficacia de utilización (Ding et al., 2017).

Tabla 6. Parámetros fisicoquímicos generales de los sustratos experimentales al comienzo del ensayo (semana 1). Códigos de los tratamientos según la Tabla 5.

Código	pH	CE (dS m ⁻¹)	CIC (cmo l kg ⁻¹)	CC 100% (g de agua)	MO (%)	Macronutrientes Disponibles (mg kg ⁻¹)			Metales Totales (mg kg ⁻¹)		
						N	P	K	Cu	Zn	As
C+	5,7	1,00	6,15	25,65	1,05	12,9	17,7	169	27,6	81,2	6,75
C-	4,0	0,18	5,36	25,28	0,73	9,52	33,2	179	354	174	16,1
B	6,6	21,2	3,61	23,60	0,73	15,9	62,4	1994	315	142	13,3
H	6,1	0,88	3,22	25,92	1,21	20,7	51,2	556	283	133	11,2
BH	6,6	20,4	4,11	25,87	1,21	17,5	73,6	1606	323	146	13,6

CE, conductividad eléctrica; CIC, capacidad de intercambio catiónico; CC 100%, capacidad de campo 100%; MO, materia orgánica.

3.2 Química del agua de poro de los sustratos experimentales

Dentro de las limitaciones que se encontraron en el desarrollo del ensayo se indica que no fue posible determinar el valor del pH del agua de poro durante la primera semana (estabilización) en dos repeticiones del C+ y en una repetición con H, debido a que el volumen extraído fue inferior a 3 mL, lo que imposibilitó la medición de este parámetro. Por otra parte, la CE registrada en las muestras con B en 17 repeticiones durante la primera semana, 11 repeticiones durante la cuarta semana y 1 repetición durante la onceava semana fueron mayores a 20 us cm⁻¹ (por encima de la capacidad de medición del conductímetro), ocurriendo la misma situación en 17 repeticiones de la primera semana, 7 de la cuarta semana y 5 de la onceava semana de las muestras de BH. Por

ello, estos datos fueron excluidos de los cálculos. Los detalles de la exclusión se pueden observar en el Anexo 1.

La Tabla 7 entrega las características químicas de las aguas de poro de los sustratos experimentales. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos, la semana de muestreo y el factor de interacción (tratamiento \times semana), para todas las variables consideradas (pH, CE y pCu^{2+}) ($p < 0,05$). Además, se muestran los detalles de los valores obtenidos por semana en cada tratamiento. Las tres características (pH, CE y pCu^{2+}) en los 5 tratamientos presentan diferencias significativas a lo largo del tiempo que duró el experimento: primera, cuarta y onceava semana. Así lo demostró la prueba estadística de Friedman (Anexo 2). Al haberse realizado tres tomas de datos en cada etapa (primera, cuarta y onceava semana), se eliminan efectos de alteración de resultados, lo que se confirma con las bajas desviaciones estándar obtenidas en cada caso ($DE < 20\%$ de la media).

En el caso del pH, se puede observar un incremento gradual en el tiempo en todos los tratamientos (Tabla 7). Los sustratos experimentales correspondientes a C+, C- y H obtuvieron valores más ácidos ($pH < 7$), incluso al final del experimento. Por otra parte, los sustratos con B y BH son los tratamientos que alcanzaron los valores más altos de pH a lo largo del ensayo, alcanzando valores de 7,4 y 7,5 respectivamente. Los resultados mostraron que C+, durante la primera semana presentaba una media de pH de 5,84, resultado similar a H ($\bar{X} = 5,67$) mientras que en los tratamientos B y BH se registraron valores significativamente mayores ($\bar{X} = 7,16$ y $\bar{X} = 7,29$, respectivamente), revelando un comportamiento similar entre ellos pero significativamente superior a C+ y H (Tabla 7). La Tabla 7 muestra que el pH en C+ y en el tratamiento con humus, el incremento de pH durante la cuarta y onceava semana fue similar, con diferencias de 0,72 y 0,61 respectivamente. El suelo C- fue el tratamiento con los resultados más bajos al final del periodo experimental ($\bar{X} = 5,06$) seguido por el H ($\bar{X} = 6,51$). Los tratamientos con mayor pH correspondieron a BH y B con medias de 7,55 y 7,44; respectivamente.

Tabla 7. Evolución a través del tiempo del pH, la conductividad eléctrica (CE) y la actividad del ión cobre (pCu^{2+}) en muestras de agua de poro tomadas de los sustratos experimentales.

Código de Tratamiento	Semana						Factores					
	1 ^a		4 ^a		11 ^a		Semana		Tratamiento		Semana x Tratamiento	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	F	p	F	p	F	p
pH												
C+	5,84	0,46	6,24	0,15	6,96	0,27						
C-	4,64	0,28	4,66	0,21	5,06	0,26						
B	7,16	0,12	7,27	0,11	7,44	0,20	635,9	<0,05	0,00	<0,05	225,8	<0,05
H	5,67	0,53	5,90	0,42	6,51	0,45						
BH	7,29	0,16	7,29	0,14	7,55	0,21						
CE $\mu s\ cm^{-1}$												
C+	1,34	0,23	1,69	0,14	0,31	0,31						
C-	0,50	0,09	0,49	0,06	0,35	0,04						
B	17,51		16,79	2,01	14,92	2,35	39,1	<0,05	73,3	<0,05	15,27	<0,05
H	1,16	0,46	1,29	0,35	0,38	0,22						
BH	17,05		16,94	1,60	14,63	2,90						
pCu ²⁺												
C+	9,58	1,88	9,62	0,89	8,15	0,38						
C-	5,71	1,07	5,41	0,63	2,64	0,20						
B	20,24	1,26	20,65	1,11	13,95	2,02	368,2	<0,05	1941,7	<0,05	369,9	<0,05
H	8,68	1,46	7,79	1,70	6,05	0,92						
BH	17,41	0,39	16,89	1,14	11,73	0,64						

DE=Desviación estándar. Nota: pH > 7, Suelo alcalino; pH < 7 Suelo levemente ácido.

Los valores de pH más altos se obtienen en los suelos enmendados con biocarbón, lo que podría estar asociado a las características que posee el biocarbón, relacionadas con la presencia de grupos funcionales fenólicos, carboxilos e hidroxilos (Ding et al., 2017; Yu et al., 2017; Oliveira et al., 2017). Estos grupos funcionales reaccionan con los iones de H^+ en el suelo, que a su vez facilitan la reducción en la concentración de estos iones, favoreciendo en un aumento del pH. Por otra parte, los silicatos, carbonatos y bicarbonatos que pueden estar presentes en el biocarbón pueden combinarse con los iones H^+ , controlando de esta forma el pH del suelo (Cha et al., 2016).

Como se observa en la Tabla 2, el biocarbón presenta un pH alcalino, tal como muestran Yu et al. (2017) en su estudio, describiendo que el pH del biocarbón derivado de macroalgas oscila entre 7,6 y 13,7. Esto induce a un efecto tampón de pH en el suelo. Esto, a su vez, favorece la inmovilización de metales (Ahmad et al., 2014). Por otro lado, Ding et al. (2017) concluyen en su estudio que la aplicación de biocarbón puede aumentar el pH del suelo debido al pH del mismo, mejorando la retención de cationes en el suelo (Ej., Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^+).

Es importante destacar que varios factores pueden influenciar en la modificación del pH en experimentos a largo plazo. A saber, la descomposición microbiana de la materia orgánica y el proceso de nitrificación, entre otros (Cárcamo et al., 2012). Sin embargo, en el presente estudio se evidencia que a corto plazo la aplicación de dosis de biocarbón resulta en un aumento significativo de los valores de pH en el agua de poro conforme avanza el tiempo, lo que concuerda con los resultados informados por Moore et al. (2018) y destacando que el efecto tampón varía dependiendo de la materia prima y de la temperatura de pirólisis mediante las cuales se producen el biocarbón (Ahmad et al., 2014).

Con referencia a la CE, se encontró que en los tratamientos C+, C- y H tuvieron un comportamiento similar durante el experimento, con valores iniciales de 1,34; 0,50 y 1,16 $\mu s\ cm^{-1}$ respectivamente, y valores finales de 0,31; 0,35 y 0,38 $\mu s\ cm^{-1}$ (Tabla 7). En los tratamientos de B y BH se registraron valores significativamente diferentes, inicialmente mayores a 20 (salvo una repetición con 17,51 en B y 17,05 en BH) y finales de 14,92 y 14,63 respectivamente (Tabla 7). En el caso de los tratamientos B y BH existían disminuciones de estos valores conforme avanzaba el experimento; sin embargo, en ambos casos se encontraron valores sobre 14,5 $\mu s\ cm^{-1}$, lo que

evidencia que al aplicar el biocarbón solo o su mezcla aumenta significativamente este parámetro en comparación con los suelos control (C+ y C-, Tabla 7); el tratamiento H presenta valores similares a los del C+ a lo largo del ensayo, mientras que el C- presenta los valores más bajos (Tabla 7). Se esperaba que los suelos modificados con biocarbón tendieran a salinizarse debido a que el biocarbón presenta valores altos de CE desde el inicio (Tabla 2). Sin embargo, se observa una disminución a medida que avanza el ensayo (Tabla 7).

En el análisis del pCu^{2+} se observaron disminuciones progresivas y grandes diferencias entre la cuarta y la onceava semana en todos los tratamientos (Tabla 7). Se encontró que durante la primera semana los valores en orden ascendente de pCu^{2+} fueron: C- ($\bar{X}=5,71$), H ($\bar{X}=8,68$); C+ ($\bar{X}=9,58$); BH ($\bar{X}=17,41$) y B ($\bar{X}=20,24$) y durante la última semana de experimento fueron en el mismo orden con valores de C- ($\bar{X}=2,64$), H ($\bar{X}=6,05$); C+ ($\bar{X}=8,15$); BH ($\bar{X}=11,73$) y B ($\bar{X}=13,95$). En este caso, no se encontraron similitudes entre tratamientos. La actividad de iones libres de cobre o pCu^{2+} dependen de la carga del metal, así como de las características del suelo. Los resultados obtenidos en la Tabla 7 muestran que el valor de pCu^{2+} en C- fue de 1,7 a 3,1 veces menor que en C+, lo que significa que el suelo C- posee una mayor cantidad de cobre iónico que el suelo C+ (Tabla 7). La incorporación de las enmiendas aumentó significativamente los valores de pCu^{2+} en la semana 1 a valores superiores a los encontrados en C+, lo que demuestra que se produce una disminución eficaz y rápida en la concentración de iones libres de cobre en el agua de poro (tiempo de equilibrio a corto plazo). Se observa que los valores de pCu^{2+} obtenidos en C- presentan valores inferiores en un rango de 3,6 a 5,2 respecto a B y 3,1 a 4,4 referente al BH lo que indica que la incorporación de biocarbón ayuda a disminuir rápidamente la concentración de iones de Cu^{2+} , inclusive alcanzando valores superiores si se compara con los valores obtenidos en C+. Resultados similares fueron obtenidos por Jones et al. (2016), que durante su experimento en macetas determinaron el efecto de tres biocarbones y compost en el crecimiento de la planta de estudio y la inmovilización de Cu, concluyendo que tanto el biocarbón como el compost como enmiendas simples y combinadas disminuyeron significativamente el Cu soluble del suelo y mejoraron el rendimiento de los brotes de girasol, además de mejorar la fertilidad del suelo mediante la provisión de nutrientes, retención de agua y control de pH. Por otra parte, Beesley et al. (2014) concluyen que la combinación de compost y biocarbón es más efectiva para reducir

la toxicidad de metales como Cu, Cd y Pb, debido a que ayuda a la reducción simultánea de metales extraíbles y su vez favorece en el aumento de los nutrientes solubles.

Algunos autores mencionan que el biocarbón reduce la movilidad y la biodisponibilidad de ciertos metales, por ejemplo Cd, Zn, Pb y Cu, debido al aumento de pH (Wu et al., 2017). Sin embargo, explicaciones contradictorias se han reportado; en un estudio realizado por Beesley et al., (2010) encontraron que las concentraciones de Cu y As medidos en el agua de poro del suelo aumentaron más de 30 veces debido a la presencia del biocarbón, indicando que estos contaminantes se movilizan, asociando la lixiviación de estos metales con los aumentos significativos del Carbono Orgánico Disuelto (COD) y el pH del suelo. En general, los biocarbonos producidos a <500 ° C tienen un alto contenido de COD, lo que podría facilitar la formación de iones de Cu solubles, adsorbidos con el COD (Ahmad et al., 2014). Por lo tanto, se sugiere que es importante conocer las propiedades de los contaminantes, las propiedades del suelo y que estos coincidan con las características del biocarbón a ser usado, ya que su impacto en la inmovilización de metales depende de varios factores (materia prima, temperatura de pirólisis, tamaño de partícula y tasa de aplicación) (Wu et al., 2017).

En la Tabla 8 se aprecia que el pH, CE y pCu²⁺ fueron significativamente diferentes entre cada medición; así lo reveló la prueba post – hoc de Tuckey (p < 0,05).

Tabla 8. Comparaciones por medición (Post hoc Tuckey) de los parámetros medidos en el agua de poro.

Semanas		pH		CE(μs cm ⁻¹)		pCu ²⁺	
		Diferencia de medias	p	Diferencia de medias	p	Diferencia de medias	p
Primera	Cuarta	-0,16	<0,05	-189,15	<0,05	3,77	<0,05
	Onceava	-1,38	<0,05	-323,59	<0,05	3,26	<0,05
Cuarta	Onceava	-1,22	<0,05	-134,43	<0,05	-0,51	<0,05

La prueba Post Hoc Tuckey del ANOVA empleado reveló que el comportamiento del pH según tratamientos era significativamente diferente en todos los casos, excepto entre B y BH, con una diferencia de medias de 0,08. Por otra parte, en referencia a

la CE no se encontraron diferencias significativas entre: C+ y C-; C+ y H; C- y H y B+H ($p=1$). Finalmente, el análisis de pCu^{2+} reveló diferencias significativas entre todos los tratamientos. Los detalles se pueden observar en la Tabla 9.

Tabla 9. Comparaciones por tratamiento Post Hoc (Tuckey) de los parámetros medidos en el agua de poro.

Tratamiento		pH		CE ($\mu s\ cm^{-1}$)		pCu^{2+}	
		Diferencia de medias	p	Diferencia de medias	P	Diferencia de medias	P
Control positivo	C-	4,18	<0,05	-8,16	1,00	6,85	<0,05
	B	-0,93	<0,05	520	<0,05	-9,16	<0,05
	H	0,33	<0,05	-8,56	1,00	3,89	<0,05
	B+H	-1,01	<0,05	519	<0,05	-1,01	<0,05
Control negativo	B	-5,11	<0,05	528	<0,05	-16,01	<0,05
	H	-3,85	<0,05	-0,40	1,00	-2,96	<0,05
	B+H	-5,19	<0,05	528	<0,05	-7,87	<0,05
Biocarbón	H	1,26	<0,05	-528	<0,05	13,06	<0,05
	B+H	-0,08	0,54	-0,09	1,00	8,15	<0,05
Humus	B+H	-1,34	<0,05	528	<0,05	-4,91	<0,05

Relaciones entre elementos:

El pH resultó estar inversamente correlacionado con la CE y el pCu^{2+} en los tratamientos C+ y C-; es decir, a mayor pH menor CE y pCu^{2+} . En el caso del C+ se registró una correlación baja ($r = -0,31$; $p < 0,05$) con la CE y una correlación moderada con el pCu^{2+} ($r = -0,50$; $p < 0,01$), mientras que en el C- se revelaron correlaciones más altas en ambas variables con $r = -0,66$ y $r = -0,59$, respectivamente. En el tratamiento B se encontró que el pH estaba correlacionado con el pCu^{2+} de manera inversa y significativa ($r = -0,46$; $p < 0,01$), mientras que en el tratamiento H se registró una correlación inversa baja con la CE ($r = -0,33$; $p < 0,05$). Finalmente, el pH en el tratamiento BH no se correlacionó con el CE y pCu^{2+} (Tabla 10).

Por otra parte, se encontraron correlaciones directas, significativas, de la CE con el pCu^{2+} , en el tratamiento C+ ($r = -0,75$; $p < 0,01$) y una correlación significativa en el

C- ($r = -0,59$; $p < 0,01$). En los tratamientos B y BH se encontraron correlaciones negativas del CE con el pCu^{2+} , una correlación baja ($r = -0,37$; $p < 0,01$) en el B y una moderada ($r = -0,54$; $p < 0,01$) en el BH. Los detalles se pueden observar en la Tabla 10.

Tabla 10. Correlaciones simples por variables químicas del agua de poro.

		C+		C-		B		H		BH	
		CE ($\mu s\ cm^{-1}$)	pCu^{2+}	CE ($\mu s\ cm^{-1}$)	pCu^{2+}	CE ($\mu s\ cm^{-1}$)	pCu^{2+}	CE ($\mu s\ cm^{-1}$)	pCu^{2+}	CE ($\mu s\ cm^{-1}$)	pCu^{2+}
pH	r	-0,50**	-0,31*	-0,66**	-0,59**	0,22	-0,46**	-0,33*	0,06	0,13	0,16
	p	0,00	0,02	0,00	0,00	0,12	0,00	0,02	0,66	0,36	0,24
CE	r	-	0,75**	-	0,59**	-	-0,37**	-	-0,06	-	-0,54**
	p	-	0,00	-	0,00	-	0,01	-	0,65	-	0,00

Nota: **. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas). *. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (2 colas). Si $r < 0$ existe una relación inversa. Si $r > 0$ existe una relación directa.

3.3 Respuestas de las plantas a los sustratos experimentales

3.3.1 Biomasa seca

En el vástago de las plantas cultivadas en los sustratos experimentales se registró biomasa seca media de entre 0,86 g y 2,05 g, correspondientes a los tratamientos C- y H (Fig. 2). En la raíz se registró una biomasa seca media mínima de 0,33 g, correspondiente a C- y una máxima de 1,28 g, correspondiente a BH (Fig. 3). En ambos casos, se halló diferencias significativas entre los cinco tratamientos ($p < 0,05$). Detalles en el Anexo 3. La prueba de Tuckey reveló que la presencia de biomasa seca en el vástago era similar entre C+ y B, así mismo entre B y BH ($p > 0,05$); en el caso de la raíz, se encontraron similitudes del C+ con B, H y BH ($p > 0,05$) (ver Anexo 4). El comportamiento de los datos se presentan en las Figuras 2 y 3.

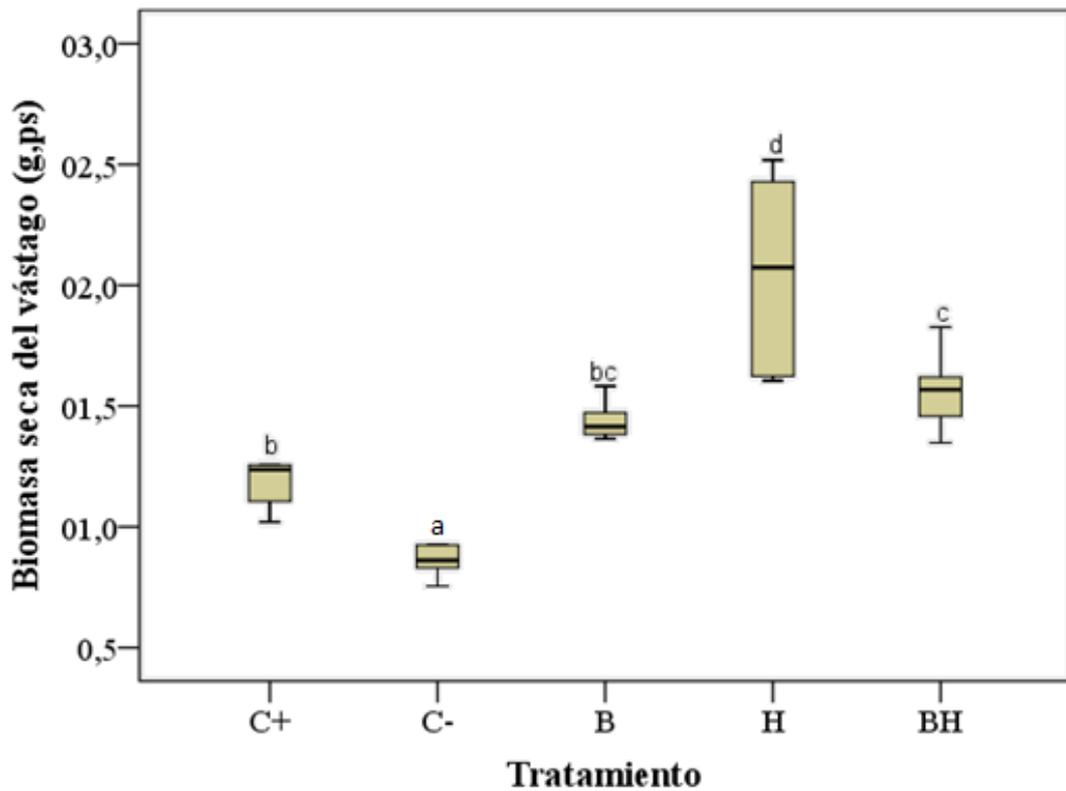


Figura 2. Variación de la biomasa seca del vástago de *Lolium perenne* según el tratamiento (ps, peso seco). Se encuentran indicados los valores medios y las desviaciones estándar (n=30). Los códigos de los tratamientos se presentan de acuerdo a la Tabla 2. Diferentes letras indican la diferencia significativa entre los tratamientos (prueba de Tuckey, $p < 0,05$).

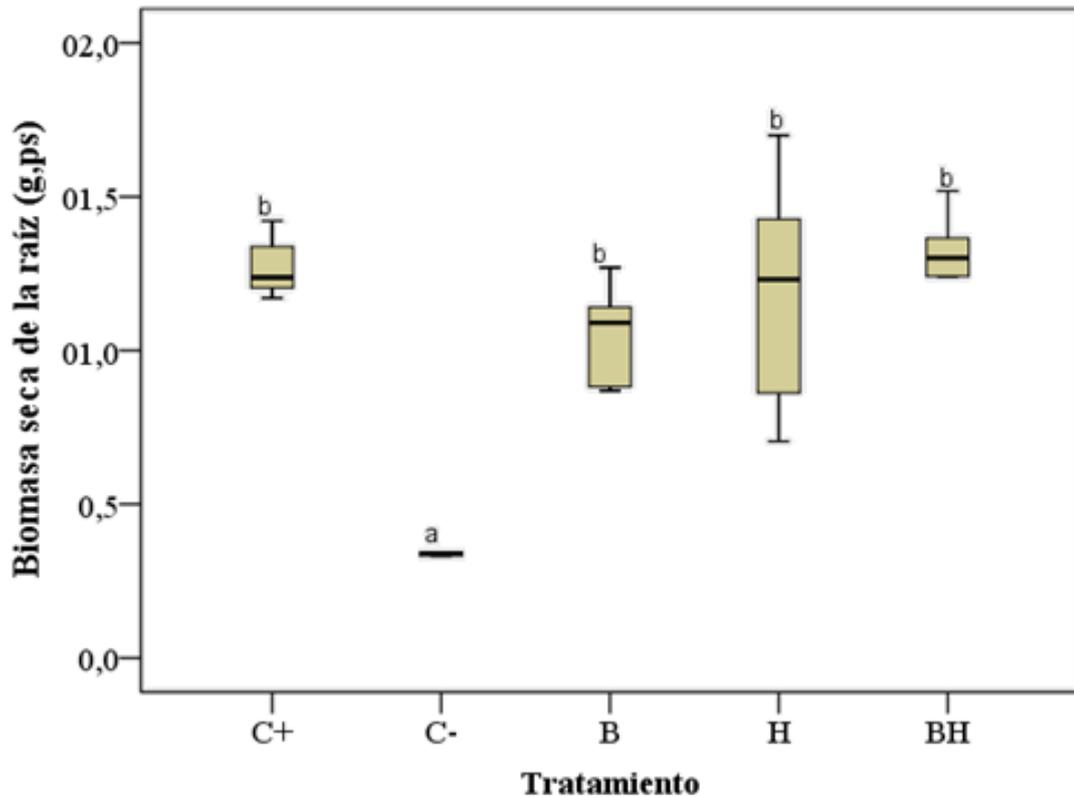


Figura 3. Variación de la biomasa seca de la raíz de *Lolium perenne* según el tratamiento (ps, peso seco). Se encuentran indicados los valores medios y las desviaciones estándar (n=30). Los códigos de los tratamientos se presentan de acuerdo a la Tabla 2. Diferentes letras indican la diferencia significativa entre los tratamientos (prueba de Tuckey, $p < 0,05$).

3.3.2 Biomasa fresca

En el vástago de las plantas cultivadas en los sustratos experimentados se registró biomasa fresca media de entre 3,45 g y 7,90 g, valores pertenecientes a los tratamientos C- y H (Fig. 4). Por otro lado, en la raíz se registró biomasa fresca media mínima de 0,33 g, correspondiente a C-, y una máxima de 1,28 g correspondiente a BH (Fig. 5). En ambos casos, se halló diferencias significativas entre los cinco tratamientos ($p < 0,05$). Detalles en el Anexo 5. En la prueba de Tuckey se reveló que la presencia de biomasa fresca en el vástago era similar entre C+ y B, así mismo entre B y H; B y BH; H y BH ($p > 0,05$); en el caso de la raíz, se encontraron similitudes de C+ con B, H y BH, B con H y BH y H con BH ($p > 0,05$) (ver Anexo 5 y 6). El comportamiento de los datos se puede visualizar en las Figuras 4 y 5.

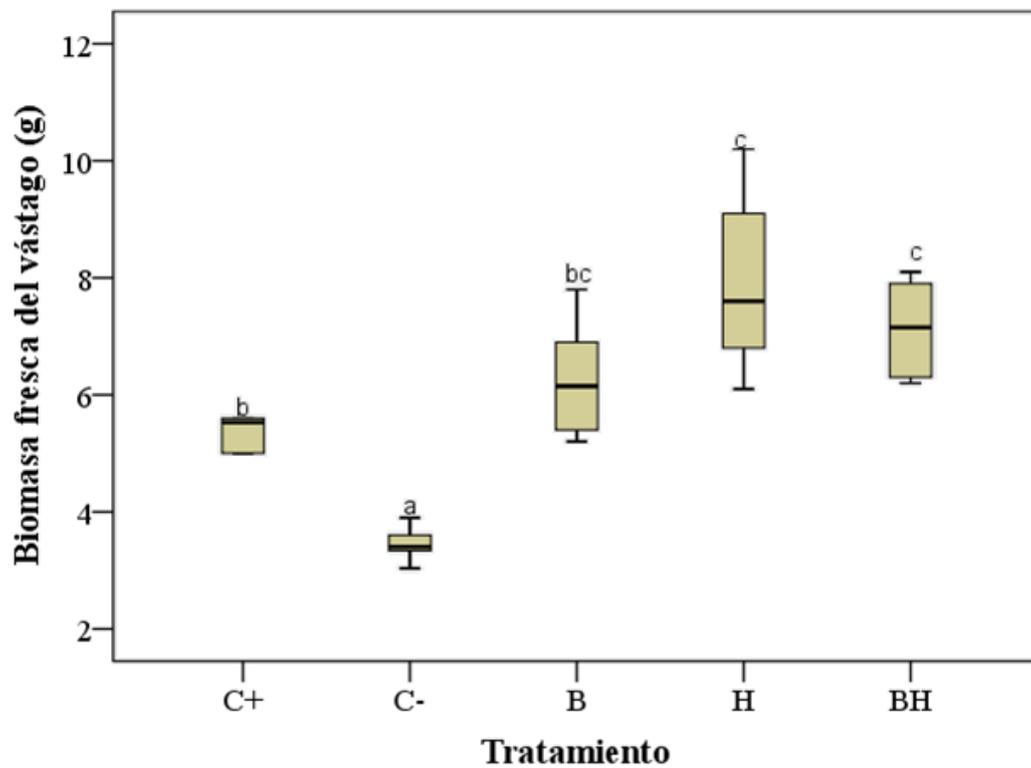


Figura 4. Variación de la biomasa fresca del vástago de *Lolium perenne* según el tratamiento. Se encuentran indicados los valores medios y las desviaciones estándar (n=30). Los códigos de los tratamientos se presentan de acuerdo a la Tabla 2. Diferentes letras indican la diferencia significativa entre los tratamientos (prueba de Tuckey, $p < 0,05$).

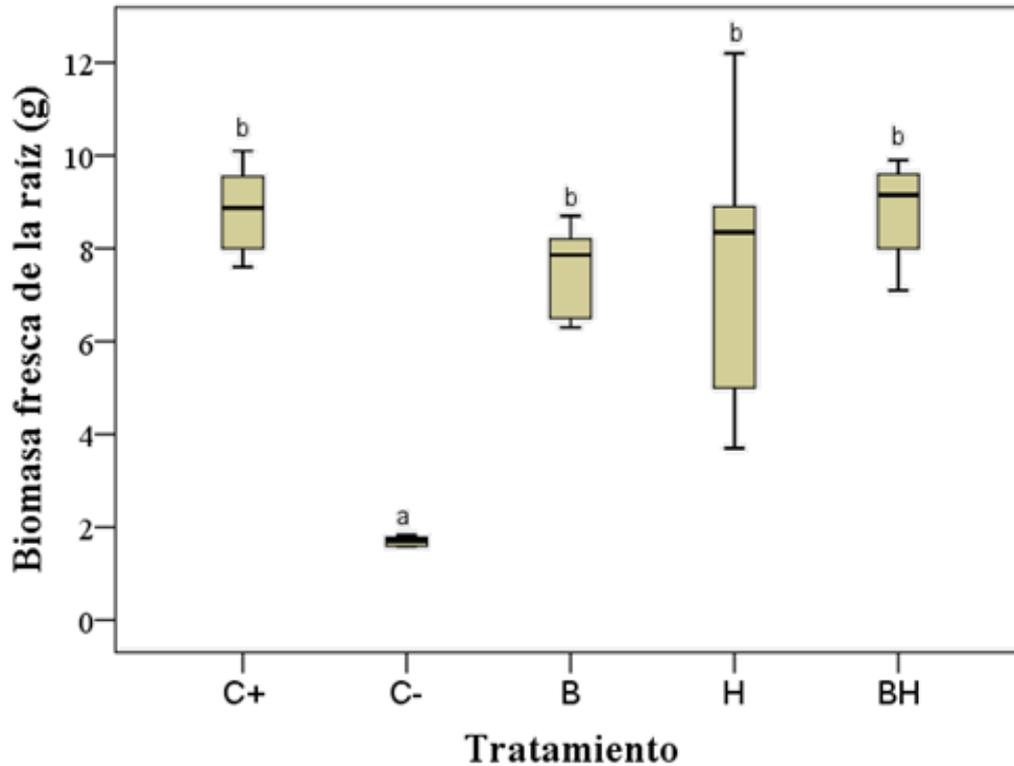


Figura 5. Variación de la biomasa fresca de la raíz de *Lolium perenne* según el tratamiento. Se encuentran indicados los valores medios y las desviaciones estándar (n=30). Los códigos de los tratamientos se presentan de acuerdo a la Tabla 2. Diferentes letras indican la diferencia significativa entre los tratamientos (prueba de Tuckey, $p < 0,05$).

Como se puede observar en las Figuras 2, 3, 4 y 5 correspondientes a la biomasa seca y fresca, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos experimentales. Mostrando una tendencia similar entre la biomasa seca y fresca tanto en la biomasa del vástago como de la raíz. El suelo C- tiene efectos adversos sobre el crecimiento de las plantas debido a que reduce la producción de biomasa tanto aérea como radicular en comparación con la productividad alcanzada en el suelo C+. Los tratamientos de H y BH aumentan la biomasa aérea y radicular a valores similares a los obtenidos con el C+.

Varios estudios han demostrado que si bien el biocarbón produce la inmovilización de metales también puede inmovilizar nutrientes esenciales para las plantas (Ca, P,

N), dando como resultado un déficit de nutrientes. Por lo tanto, es importante considerar la combinación del biocarbón con otras enmiendas que favorezcan la reducción de la disponibilidad de metales y además contribuyan en la fertilidad del suelo, favoreciendo el crecimiento de las plantas (Zhang et al., 2016; Wu et al., 2017; Xu et al., 2017). En el estudio realizado por Wang et al. (2016), los autores determinaron los efectos sinérgicos de la mezcla de biocarbón y compost para mejorar las propiedades del suelo y a su vez promover el crecimiento de las plantas, así como el rendimiento de la biomasa. Los resultados de este estudio concuerdan con los resultados obtenidos por esos autores, donde se evidencia que el BH resulta en un efecto positivo mayor para las plantas que el mismo biocarbón sin la adición de humus, resaltando la importancia de la adición simultánea de humus, o cualquier otro material rico en materia orgánica, para mejorar las condiciones físicas y nutricionales limitantes de los suelos.

Como se observa entre los tres tratamientos, el tratamiento B es el que presenta una menor biomasa aérea. Esto puede estar relacionado a que a pesar de las ventajas mencionadas del biocarbón y su relación a la reducción de la disponibilidad de los metales, también existe la posibilidad que se reduzca la disponibilidad de otros nutrientes. Incluso, puede resultar en una menor competencia con los cationes para la absorción de metales (Rees et al., 2015; Wu et al., 2017). Otra explicación puede deberse al aumento de los valores de CE medidos en el agua de poro del tratamiento B (Tabla 7) provocando una alta salinidad del suelo, lo que limita el crecimiento de las plantas; H presenta el mayor peso de biomasa aérea. En relación a la biomasa radicular, BH es el que presenta la mayor cantidad de biomasa. Al comparar la biomasa radicular entre los tres tratamientos, B es el que presenta la menor cantidad, inclusive presenta una menor cantidad al ser comparado con C+. Se ha establecido que en sustratos con un mayor nivel de nutrientes, las plantas pueden asignar una mayor cantidad de recursos para el desarrollo de estructuras aéreas, mostrando una menor cantidad de biomasa radicular (Cárcamo et al., 2012). En un estudio realizado por Roberts et al. (2015), donde los autores analizaron las diferentes tasas de biocarbón producido a partir de algas, concluyeron que el biocarbón redujo el tiempo de germinación del pasto y aumentó el crecimiento y la producción de biomasa vegetal; sin embargo, al probar con tasas de aplicación más alta, no se observaron efectos beneficiosos.

3.3.3 Relación de la Biomasa con las características químicas del agua de poro

Se encontraron correlaciones positivas, estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre el pH del agua de poro (onceava semana del ensayo) y la biomasa fresca del vástago y el pH y la biomasa fresca y seca de la raíz. Así también, se registraron correlaciones positivas, estadísticamente significativas ($p < 0,05$), entre la CE del agua de poro y la biomasa fresca y seca del vástago. Los detalles se presentan en la tabla 11.

Tabla 11. Correlaciones simples entre las variables químicas del agua de poro y la biomasa seca del vástago y raíz, a la onceava semana del ensayo experimental. En negrita se destacan las correlaciones significativas.

Biomasa	Prueba	pH	CE	pCu ²⁺	
Fresca	Vástago	rs	0,46	0,45	0,16
		p	< 0,05	< 0,05	0,42
	Raíz	rs	0,53**	0,32	0,26
		p	< 0,05	0,10	0,19
Seca	Vástago	rs	0,35	0,43	0,07
		p	0,06	< 0,05	0,74
	Raíz	rs	0,53	0,25	0,23
		p	< 0,05	0,21	0,23

La importancia del pH en el crecimiento de las plantas se centra en que este parámetro controla las reacciones químicas que determinan si los nutrientes van a estar o no disponibles (solubles o insolubles) para su absorción (Lehmann et al., 2015). Por tal motivo, los problemas nutritivos más comunes ocurren cuando el pH se encuentra fuera del rango óptimo que se encuentra entre 5,5 y 6,8. Por debajo de este rango, pueden presentarse deficiencias de nitrógeno, potasio, calcio y magnesio; mientras que por encima, puede disminuir la solubilidad del hierro, fósforo, manganeso, zinc y cobre (Camacho et al., 2013). Si el pH del sustrato se encuentra en el rango óptimo (pH entre 5,5 y 6,8), la mayoría de los nutrientes mantiene su máximo nivel de solubilidad (González et al., 2015), por lo que el crecimiento de las plantas es mayor y, por ende, su biomasa. En este estudio, el pH óptimo se logró incorporando a los suelos acidificados enmiendas alcalinas, como por ejemplo

biocarbón. Por otra parte el pH también afecta la solubilidad y la biodisponibilidad del Cu, mientras mayor es este parámetro menor es su solubilidad y por ende se vuelve menos tóxico, favoreciendo a la producción de biomasa (El-Azeem et al., 2013; Roberts et al., 2015; Godlewska et al., 2017).

La CE es la medida de la capacidad de un material para conducir la corriente eléctrica, su valor es más alto cuanto más fácil se mueva dicha corriente a través del mismo sustrato por una concentración más elevada de sales. Esto significa que a mayor CE, mayor es la concentración de sales. Se recomienda que la CE de un sustrato sea en lo posible menor a 1 dS m^{-1} , debido a que facilita el manejo de la fertilización y evita problemas por fitotoxicidad (Cepeda et al., 2014).

3.4 Consideraciones finales

Se reconoce en la literatura al biocarbón como una enmienda valiosa para la modificación del suelo. Sin embargo, su estabilidad a largo plazo aún no se ha evaluado por completo (Godlewska et al., 2017). El presente estudio aporta información sobre el rol del biocarbón obtenido a partir de macroalgas marinas para la remediación de suelos contaminados y degradados en climas mediterráneos semiáridos, lo que nos deja como enseñanza que es importante considerar factores como la temperatura de pirólisis, la materia prima de fabricación, la tasa de aplicación y el tipo de suelo antes de aplicar dosis de biocarbón, ya que estos factores influyen en la inmovilización *in situ* (Ding et al., 2017). Además, será necesario realizar estudios que comparen el comportamiento de los biocarbones obtenidos a diferente temperatura, debido a la gran variabilidad que existe entre los diferentes tipos de biocarbón, lo que implica que los efectos en la remediación del suelo sea bastante impredecible (Zhu et al., 2017). Se recomienda para futuros estudios considerar varios tipos de biocarbón que aporten diferentes nutrientes al suelo. Es importante resaltar que en su estudio Yu et al. (2017) determinaron que el biocarbón producido mediante algas tiene un área superficial y un contenido de carbono más bajos, pero presenta una mayor capacidad de intercambio catiónico en comparación con el biocarbón de lignocelulosa, lo que puede ser mucho más adecuado en su uso como enmienda para inmovilización *in situ* de cationes metálicos en suelos degradados químicamente.

Es importante como primer paso determinar las propiedades del biocarbón e inclusive probar con una mezcla de biocarbones de algas marinas y otro lignocelulosa y a partir de estos resultados poder planificar ensayos de campo a largo plazo, en los que se pueda incluir factores específicos de la ubicación del sitio de estudio y el clima, debido a que los resultados que se obtengan en un entorno específico no deberían aplicarse automáticamente a todas las zonas climáticas.

Finalmente, la aplicación a gran escala de biocarbón está limitada por la falta de una comprensión mecanicista de cómo los diferentes tipos de biocarbón funcionan en diferentes tipos de suelo. Por lo tanto, se debe trabajar en tratar de predecir qué combinaciones de biocarbón y suelo producirán resultados positivos para la salud del suelo y el crecimiento de la vegetación. Otro aspecto importante a destacar es que los cambios en la biodisponibilidad de los contaminantes después del tratamiento con biocarbón podrían relacionarse con cambios microbianos en el suelo. Sin embargo, el impacto del biocarbón en la microbiología del suelo aún sigue siendo un tema poco estudiado.

4. CONCLUSIONES

El biocarbón producido a partir de la biomasa de la macroalga *Macrocystis pyrifera* (Huiro Canutillo) por temperatura de pirólisis de 450° C, demostró ser una enmienda efectiva para la neutralización de los suelos degradados del valle de Puchuncaví y para la inmovilización *in situ* del Cu iónico presente en condiciones controladas y en un plazo de 11 semanas. Sin embargo, la alta salinidad generada por su incorporación al suelo y la reducción en los contenidos biodisponibles de nutrientes, habrían restringido el desarrollo de la especie vegetal indicadora cultivada (*L. perenne*), constituyendo esto un aspecto negativo para el re-establecimiento de la vegetación en los suelos del valle de Puchuncaví.

La incorporación simultánea de humus con el biocarbón sería una estrategia de remediación más adecuada ya que posibilitaría tanto la neutralización como la inmovilización del Cu iónico presente en el suelo del valle de Puchuncaví, además del desarrollo adecuado de una cubierta vegetal. Esto último, debido al mayor aporte nutricional del humus y al menor efecto en la salinidad del sustrato.

Si bien un ensayo de laboratorio se considera un buen punto de partida, resulta necesario considerar la realización de estudios de mayor escala y en condiciones de

terreno, en donde se puedan verificar los efectos del biocarbón en las propiedades de los suelos en un periodo prolongado de tiempo. Como se mencionó anteriormente las características del biocarbón varían en función de su materia prima y su temperatura de pirólisis, resultando necesario por lo tanto generar un biocarbón específico y diseñado de acuerdo a las propiedades del suelo y las condiciones ambientales específicas de la zona.

5. RESUMEN

La evaluación científico-tecnológica que se está realizando en la Bahía de Quintero para limpiar sus aguas costeras de contaminantes a través del cultivo de macroalgas y la generación de biocarbón a partir de esta biomasa algal, determina una oportunidad de disponer localmente de una potencial enmienda orgánica para los suelos degradados químicamente del Valle de Puchuncaví, que requieren acciones de remediación a gran escala. El objetivo de este estudio fue evaluar, bajo condiciones de laboratorio, la eficacia de este biocarbón, con énfasis en su capacidad neutralizante y de inmovilización de cobre. Suelo degradado químicamente del sector de Los Maitenes (C-) fue acondicionado con Biocarbón (B) o Humus (H), además de la mezcla de Biocarbón más Humus (BH) y suelo de referencia Maitencillo (C+), fueron llenados en macetas de 1 L (6 repeticiones) y se mantuvieron en invernadero durante 4 semanas, con riego, para estabilizarlos químicamente. Al inicio de la quinta semana se sembraron 0,6 g de semillas de *Lolium perenne* por maceta y se mantuvieron por 11 semanas. Los resultados demostraron que los sustratos con biocarbón aumentaron el pH ácido (B= 7,44; BH=7,55) y disminuyeron significativamente la fracción de Cu intercambiable. Los efectos positivos del BH y H en el suelo aumentaron la producción de biomasa vegetal sin embargo, los suelos con B presentaron una biomasa inferior, por su alta conductividad eléctrica. Los resultados permiten concluir que el biocarbón usado, en mezcla con humus, permite remediar los suelos degradados del valle de Puchuncaví, al menos en el corto plazo.

Palabras Clave: remediación, suelo degradado químicamente, enmienda orgánica, cobre.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, M., Rajapaksha, A. U., Lim, J. E., Zhang, M., Bolan, N., Mohan, D., ... Ok, Y. S. (2014). Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: A review. *Chemosphere*, 99, 19–23. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.10.071>
- Al-Wabel, M. I., Al-Omran, A., El-Naggar, A. H., Nadeem, M., & Usman, A. R. A. (2013). Pyrolysis temperature induced changes in characteristics and chemical composition of biochar produced from conocarpus wastes. *Bioresource Technology*, 131, 374–379. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.165>
- Amin, A. E.-E. A. Z., Eissa, M. A., El-Eyoon Abu Zied Amin, A., & Eissa, M. A. (2017). Biochar effects on nitrogen and phosphorus use efficiencies of zucchini plants grown in a calcareous sandy soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4), 912–921. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162017000400006>
- Araya, M. (2016). Capacidad de adsorción de cobre y arsénico desde sistemas acuosos y enmienda de suelos contaminados mediante biocarbón generado del alga parda *macrocystis pyrifera* (ochrophyta), 1–49.
- Arienzo M, Adamo P, Cozzolino V (2004) The potential of *Lolium perenne* for revegetation of contaminated soil from a metallurgical site. *Sci Total Environ* 319:13–25
- Awad, Y. M., Ok, Y. S., Abriqata, J., Beiyuan, J., Beckers, F., Tsang, D. C. W., & Rinklebe, J. (2018). Pine sawdust biomass and biochars at different pyrolysis temperatures change soil redox processes. *Science of the Total Environment*, 625, 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.194>
- Beiyuan, J., Lau, A.Y.T., Tsang, D.C.W., Zhang, W., Kao, C.M., Baek, K., Ok, Y.S., Li, X.D., 2018. Chelant-enhanced washing of CCA-contaminated soil: coupled with selective dissolution or soil stabilization. *Sci. Total Environ.* 612, 1463–1472.
- Beesley, L., Moreno-Jimenez, E., Gomez-Eyles, J.L., 2010. Effects of biochar and greenwaste compost amendments on mobility, bioavailability and toxicity of inorganic and organic contaminants in a multi-element polluted soil. *Environ. Pollut.* 158 (6), 2282e2287.
- Beesley, L., Inneh, O. S., Norton, G. J., Moreno-Jimenez, E., Pardo, T., Clemente, R., & Dawson, J. J. (2014). Assessing the influence of compost and biochar amendments on the mobility and toxicity of metals and arsenic in a naturally contaminated mine soil. *Environmental Pollution*, 186, 195-202.
- Camacho-Tamayo, J. H. (2013). SPATIAL RELATION BETWEEN ELECTRICAL CONDUCTIVITY AND SOME CHEMICAL SOIL PROPERTIES. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 16(2), 401-408.
- Cárcamo, V., Bustamante, E., Trangolao, E., De, L. M., Mench, M., & Ginocchio, R. (2012). Simultaneous immobilization of metals and arsenic in acidic polluted soils near a copper smelter in central Chile, 19(4), 1131–1143. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0673-3>
- Cepeda-Guzmán, Alejandro, Valdez-Aguila, Luis A., Castillo-González, Ana M., Ruiz-Torres, Norma A., Robledo-Torres, Valentín, & Mendoza-Villarreal, Rosalinda.

- (2014). Respuestas de lechuga a la conductividad eléctrica con riego superficial y subirrigación. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 5(7), 1233-1245.
- Cha, J. S., Park, S. H., Jung, S. C., Ryu, C., Jeon, J. K., Shin, M. C., & Park, Y. K. (2016). Production and utilization of biochar: A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 40, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.06.002>
- Cho, D.-W., Kwon, E.E., Kwon, G., Zhang, S., Lee, S.-R., Song, H., 2017a. Co-pyrolysis of paper mill sludge and spend coffee ground using CO₂ as reaction medium. *J. CO₂ Util.* 21, 572–579.
- Cho, D.-W., Yoon, K., Kwon, E.E., Biswas, J.K., Song, H., 2017b. Fabrication of magnetic biochar as a treatment medium for As (V) via pyrolysis of FeCl₃-pretreated spent coffee ground. *Environ. Pollut.* 229, 942–949.
- Comisión de Recursos Naturales, Bienes Nacionales y Medio Ambiente “Informe de la comisión de recursos naturales, bienes nacionales y medio ambiente recaído en el mandato otorgado por la sala a fin de analizar, indagar, investigar y determinar la participación de la empresa estatal CODELCO y empresas asociadas, en la contaminación ambiental en la zona de Puchuncaví y Quintero.” Cámara de los diputados. Año 2011. Disponible online en <http://www.camara.cl/sala/doc2.aspx?DOCID=3043>
- Contreras, L., Bulboa, C., Galbán, C., Remonsellez, J., & Mella, D. (2014). Cultivo del alga parda *Macrocystis pyrifera* en la zona de Quintero y Puchuncaví: Evaluación de la productividad y potencial uso para biorremediación de metales pesados y compuestos orgánicos, 2015. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Curaqueo, G., Meier, S., Khan, N., Cea, M., Navia, R. 2014. Use of biochar on two volcanic soils: effects on soil properties and barley yield. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 14(4), 911-924.
- De Gregori, I., Fuentes, E., Rojas, M., Pinochet, H., Potin-Gautier, M., 2003. Monitoreo de los niveles de cobre, arsénico y antimonio en los suelos agrícolas afectadas y no afectadas por las actividades mineras, de tres regiones de Chile. *J. Environ. Monit.* 5, 287–295.
- Ding, Y., LIU, Y., LIU, S., HUANG, X., LI, Z., TAN, X., ... ZHOU, L. (2017). Potential Benefits of Biochar in Agricultural Soils: A Review. *Pedosphere*, 27(4), 645–661. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60375-8](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60375-8)
- El-Azeem, S.A.M.A., Ahmad, M., Usman, A.R.A., Kim, K.-R., Oh, S.-E., Lee, S.S., Ok, Y.S., 2013. Changes of biochemical properties and heavy metal bioavailability in soil treated with natural liming materials. *Environ. Earth Sci.* 70, 3411–3420.
- Environmental Resources Management. 1993. Environmental project. Ventanas region, Chile. Vol. 1: Final report. London: Environmental Resources Limited, UK.
- Feng, M., Zhang, W., Wu, X., Jia, Y., Jiang, C., Wei, H., ... Tsang, D. C. W. (2018). Continuous leaching modifies the surface properties and metal(loid) sorption of sludge-derived biochar. *Science of the Total Environment*, 625, 731–737. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.337>

- Folchi M. 2006. Historia ambiental de las labores de beneficio en la minería de cobre en Chile, siglos XIX y XX, Tesis de doctorado, Departamento de Economía y de Historia Económica, Universidad Autónoma de Barcelona.
- Gao, L., Wang, R., Shen, G., Zhang, J., Meng, G., & Zhang, J. (2017). Effects of biochar on nutrients and the microbial community structure of tobacco-planting soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4), 884–896. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162017000400004>
- Ginocchio, R., 2000. Effect of a copper smelter on a grassland community in the Puncuncaví Valley, Chile. *Chemosphere* 41, 15–23.
- Ginocchio, R., Carvallo, G., Toro, I., Bustamante, E., Silva, Y., Sepúlveda, N., 2004. Microspatial variation of soil metal pollution and plant recruitment near a copper smelter in central Chile. *Environ. Pollut.* 127, 343–352.
- Goecke, P., Ginocchio, R., Mench, M., & Neaman, A. (2011). Amendments promote the development of *Lolium perenne* in soils affected by historical copper smelting operations. *International Journal of Phytoremediation*, 13(6), 552–566. <https://doi.org/10.1080/15226514.2010.495150>
- Godlewska, P., Schmidt, H. P., Ok, Y. S., & Oleszczuk, P. (2017). Biochar for composting improvement and contaminants reduction. A review. *Bioresource Technology*, 246, 193–202. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.095>
- González, I., Neaman, A., Rubio, P., & Cortés, A. (2014). Spatial distribution of copper and pH in soils affected by intensive industrial activities in Puncuncaví and Quintero, central Chile. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14(ahead), 0–0. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162014005000074>
- González, Marta, Quiroz, Iván, Travieso, Ruy, Chung, Patricio, & García, Edison. (2015). DETERMINACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO Y PH PARA LA MASIFICACIÓN in vitro DE CEPAS DE *Suillus luteus* Aubl. ASOCIADAS A *Pinus radiata* D. Don Y *Scleroderma citrinum* Pers. ASOCIADAS A *Eucalyptus globulus* Labill. DE LA REGIÓN DEL BIOBÍO, CHILE. *Revista Árvore*, 39(1), 105-113.
- IBI., 2012. Standardized product definition and product testing guidelines for biochar that is used in soil. International Biochar Initiative, April 2012.
- Jones, S., Bardos, R. P., Kidd, P. S., Mench, M., de Leij, F., Hutchings, T., ... Menger, P. (2016). Biochar and compost amendments enhance copper immobilisation and support plant growth in contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, 171, 101–112. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.01.024>
- Kim, H.-S., Kim, K.-R., Yang, J.E., Ok, Y.S., Owens, G., Nehls, T., et al., 2016. Effect of biochar on reclaimed tidal land soil properties and maize (*Zea mays* L.) response. *Chemosphere* 142, 153–159.
- Klute A (1986) Methods of soil analysis. Physical and mineralogical methods, vol. 1. American Society of Agronomy, Wisconsin
- Lehmann, J., Joseph, S., 2009. Biochar for environmental management: an introduction. In: Lehmann, J., Joseph, S. (Eds.), *Biochar for Environmental*

- Management Science and Technology. Earthscans, UK, pp. 1–12.
- Lehmann, J., Kuzyakov, Y., Pan, G., & Ok, Y. S. (2015). Biochars and the plant-soil interface.
- Lima, J. R. de S., de Moraes Silva, W., de Medeiros, E. V., Duda, G. P., Corrêa, M. M., Martins Filho, A. P., ... Hammecker, C. (2018). Effect of biochar on physicochemical properties of a sandy soil and maize growth in a greenhouse experiment. *Geoderma*, 319(December 2017), 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.12.033>
- Ministerio del Medio Ambiente (MMA). 2013. Análisis de riesgo ecológico por sustancias potencialmente contaminantes en el aire, suelo y agua, en las comunas de Concón, Quintero y Puchuncaví. 380 pp.
- Moore, F., González, M. E., Khan, N., Curaqueo, G., Sanchez-Monedero, M., Rilling, J., ... Meier, S. (2018). Copper immobilization by biochar and microbial community abundance in metal-contaminated soils. *Science of the Total Environment*, 616–617, 960–969. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.223>
- Muena, V., I. González & A. Neaman. 2010. Efectos del encalado y la fertilización nitrogenada sobre el desarrollo de *Oenothera affinis* en un suelo afectado por la minería del cobre. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 10(2): 102-114
- Neaman, A., Reyes, L., Trolard, F., Bourrié, G., Sauvé, S., 2009. Copper mobility in contaminated soils of the Puchuncaví valley, central Chile. *Geoderma* 150, 359–366.
- Neaman A, Huerta S, Sauvé S. (2012). Effects of lime and compost on earthworm (*Eisenia fetida*) reproduction in copper and arsenic contaminated soils from the Puchuncaví Valley, Chile. *Ecotox Environ Safe* 80, 386-392.
- Novak, J., Ro, K., Ok, Y.S., Sigua, G., Spokas, K., Uchimiya, S., et al., 2016. Biochars multifunctional role as a novel technology in the agricultural, environmental, and industrial sectors. *Chemosphere* 142, 1–3.
- Obia, A., Mulder, J., Martinsen, V., Cornelissen, G., Borresen, T. 2016. In situ effects of biochar on aggregation, water retention and porosity in lighttextured tropical soils. *Soil & Tillage Research*. 155, 35–44.
- O'Connor, D., Peng, T., Zhang, J., Tsang, D. C. W., Alessi, D. S., Shen, Z., ... Hou, D. (2018). Biochar application for the remediation of heavy metal polluted land: A review of in situ field trials. *Science of the Total Environment*, 619–620, 815–826. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.132>
- Oliveira, F. R., Patel, A. K., Jaisi, D. P., Adhikari, S., Lu, H., & Khanal, K. (2017). Environmental application of biochar: Current status and perspectives. *Bioresource Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.122>
- Qian, L., Chen, B., 2013. Dual role of biochars as adsorbents for aluminum: The effects of oxygen-containing organic components and the scattering of silicate particles. *Environmental Science and Technology* 47(15), 8759-8768.
- Qian, L., Zhang, W., Yan, J., Han, L., Gao, W., Liu, R., Chen, M., 2016. Effective

- removal of heavy metal by biochar colloids under different pyrolysis temperatures. *Bioresource Technology* 206, 217-24.
- Rees F, Germain C, Sterckeman T, Morel JL (2015) Plant growth and metal uptake by a non-hyperaccumulating species (*Lolium perenne*) and a Cd-Zn hyperaccumulator (*Noccaea caerulescens*) in contaminated soils amended with biochar. *Plant Soil* 395(1):57–73
- Roberts, D. A., Cole, A. J., Paul, N. A., & de Nys, R. (2015). Algal biochar enhances the re-vegetation of stockpiled mine soils with native grass. *Journal of Environmental Management*, 161, 173–180.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.07.002>
- Roberts, D. A., Paul, N. A., Cole, A. J., & de Nys, R. (2015 b). From waste water treatment to land management: Conversion of aquatic biomass to biochar for soil amelioration and the fortification of crops with essential trace elements. *Journal of Environmental Management*, 157, 60–68.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.04.016>
- Shackley, S., Carter, S., Knowles, T., Middelink, E., Haefele, S., Sohi, S., Cross, A., Haszeldine, S., 2012. Sustainable gasification-biochar systems? A case-study of rice-husk gasification in Cambodia, Part 1: Context, chemical properties, environmental and health and safety issues. *Energy Policy* 42, 49–58.
- Vulkan R, Zhao F-J, Barbosa-Jefferson V, Preston S, Paton GI, Tipping E, McGrath S (2000) Copper speciation and impacts on bacterial biosensors in the pore water of copper-contaminated soils. *Environ Sci Technol* 34:5115–5121
- Wang GJ, Xu ZW, Li Y (2016) Effects of biochar and compost on mung bean growth and soil properties in a semi-arid area of northeast China. *Int J Agric Biol* 18(5):1056–1060
- Wu, S., He, H., Inthapanya, X., & Yang, C. (2017). Role of biochar on composting of organic wastes and remediation of contaminated soils — a review.
<https://doi.org/10.1007/s11356-017-9168-1>
- Xu, X., Zhao, Y., Sima, J., Zhao, L., Mašek, O., & Cao, X. (2017). Indispensable role of biochar-inherent mineral constituents in its environmental applications: A review. *Bioresource Technology*, 241, 887–899.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.023>
- Yu, K. L., Lau, B. F., Show, P. L., Ong, H. C., Ling, T. C., Chen, W. H., ... Chang, J. S. (2017). Recent developments on algal biochar production and characterization. *Bioresource Technology*, 246, 2–11.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.009>
- Zar JH (1984) *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs
- Zhang JN, Chen GF, Sun HF, Zhou S, Zou GY (2016) Straw biochar hastens organic matter degradation and produces nutrient-rich compost. *Bioresour Technol* 200:876–883
- Zhu, X., Chen, B., Zhu, L., & Xing, B. (2017). Effects and mechanisms of biochar-microbe interactions in soil improvement and pollution remediation: A review. *Environmental Pollution*, 227, 98–115.

7. ANEXOS.

Anexo 1. Caracterización de exclusión de datos

Caracterización de análisis N=18			
	Semanas	pH perdidos	CE no disponibles*
Control positivo (C+)	Primera	2	0
	Cuarta	0	0
	Onceava	0	0
Control negativo (C-)	Primera	0	0
	Cuarta	0	0
	Onceava	0	0
Biocarbón (B)	Primera	0	17
	Cuarta	0	11
	Onceava	0	1
Humus (H)	Primera	1	0
	Cuarta	0	0
	Onceava	0	0
Biocarbón + Humus (BH)	Primera	0	17
	Cuarta	0	7
	Onceava	0	5

*Nota: * La capacidad del equipo no arroja valores exactos, CE > 20*

Anexo 2. Prueba Friedman

	Característica	Friedman	p
Control positivo	pH	27,13	0,000*
	pCu ²⁺	10,78	0,005*
	CE	26,00	0,000*
Control negativo	pH	28,00	0,000*
	pCu ²⁺	36,00	0,000*
	CE	20,48	0,000*
Biocarbón	pH	18,34	0,000*
	pCu ²⁺	28,08	0,000*
	CE	-	**
Humus	pH	26,24	0,000*
	pCu ²⁺	36,00	0,000*
	CE	26,24	0,000*
Biocarbón + Humus	pH	6,78	0,034*
	pCu ²⁺	36,00	0,000*
	CE	-	**

*Nota: * Diferencia significativa ** no fue posible el cálculo debido a que no se tenían los valores exactos (CE > 20)*

Anexo 3. Medidas de Tendencia Central de la Biomasa seca del vástago y raíz

		Mínimo	Máximo	Media	DE	F	p
Vástago	C+	1,02	1,51	1,23	0,17	35,05	<0,05
	C-	0,75	0,93	0,86	0,06		
	B	1,36	1,58	1,44	0,08		
	Humus	1,60	2,52	2,05	0,39		
	BH	1,35	1,83	1,56	0,16		
Raíz	C+	1,17	1,42	1,27	0,09	33,18	<0,05
	C-	0,21	0,40	0,33	0,07		
	B	0,87	1,27	1,06	0,16		
	Humus	0,70	1,70	1,19	0,37		
	BH	0,95	1,52	1,28	0,19		

Anexo 4. Post Hoc (Tuckey) Biomasa Seca (g)

Vástago			Raíz		
	Tratamientos	p		Tratamientos	p
Control positivo	Control negativo	0,003*	Control positivo	Control negativo	0,000*
	Biocarbón	0,232		Biocarbón	0,408
	Humus	0,000*		Humus	0,926
	Biocarbón + Humus	0,023*		Biocarbón + Humus	1,000
Control negativo	Biocarbón	0,000*	Control negativo	Biocarbón	0,000*
	Humus	0,000*		Humus	0,000*
	Biocarbón + Humus	0,000*		Biocarbón + Humus	0,000*
Biocarbón	Humus	0,000*	Biocarbón	Humus	0,865
	Biocarbón + Humus	0,784		Biocarbón + Humus	0,379
Humus	Biocarbón + Humus	0,005*	Humus	Biocarbón + Humus	0,909

Anexo 5. Prueba Post Hoc (Tuckey) Biomasa Fresca (g)

		Mínimo	Máximo	Media	DE	F	p
Vástago	C+	5,00	6,84	5,58	0,67	29,94	<0,05
	C-	3,03	3,90	3,45	0,29		
	B	5,20	7,80	6,27	1,01		
	Humus	6,10	10,20	7,90	1,51		
	BH	6,20	8,10	7,13	0,84		
Raíz	C+	7,60	10,10	8,83	0,96	49,55	<0,05
	C-	1,05	1,83	1,61	0,29		
	B	6,30	8,70	7,57	0,96		
	Humus	3,70	12,20	7,75	3,05		
	BH	7,10	9,90	8,82	1,08		

Anexo 6. Prueba Post Hoc (Tuckey) por tratamientos de la Biomasa Fresca

Vástago			Raíz		
	Tratamientos	p		Tratamientos	p
Control positivo	Control negativo	0,000*	Control positivo	Control negativo	0,000*
	Biocarbón	0,644		Biocarbón	0,737
	Humus	0,002*		Humus	0,580
	Biocarbón + Humus	0,037*		Biocarbón + Humus	1,000
Control negativo	Biocarbón	0,000*	Control negativo	Biocarbón	0,000*
	Humus	0,000*		Humus	0,000*
	Biocarbón + Humus	0,000*		Biocarbón + Humus	0,000*
Biocarbón	Humus	0,055	Biocarbón	Humus	0,999
	Biocarbón + Humus	0,459		Biocarbón + Humus	0,752
Humus	Biocarbón + Humus	0,750	Humus	Biocarbón + Humus	0,596

Anexo 7. Volumen Agua de Poro

	Semanas	Media	DE
Control positivo	Primera	7,8	5,0
	Cuarta	7,6	2,2
	Onceava	5,7	2,2
Control negativo	Primera	7,2	2,6
	Cuarta	7,5	3,2
	Onceava	11,5	3,1
Biocarbón	Primera	7,0	3,3
	Cuarta	6,7	2,5
	Onceava	9,1	2,8
Humus	Primera	6,9	3,3
	Cuarta	7,2	2,1
	Onceava	6,1	2,0
Biocarbón + Humus	Primera	8,5	3,3
	Cuarta	7,2	3,4
	Onceava	9,3	3,4

