

GT2: Identificación de suelos vulnerables a la contaminación por cobre, implementación de nuevas técnicas para remediación de suelos e impacto en la reaparición de enfermedades fúngicas

INTERREG SUDOE COPPEREPLACE

David Fernández Calviño

Objetivos:

- i) mantener concentraciones de cobre en los suelos de viñedos en niveles seguros
- ii) predecir los efectos negativos del cobre en agroecosistemas según propiedades generales (identificar suelos vulnerables)
- iii) proporcionar soluciones innovadoras para la remediación de suelos vulnerables a altos grados de cobre.

Selección de los suelos y caracterización

10 suelos de viñedo seleccionados en función del pH y contenido en OM

Soil	Sand	Silt	Clay	pH	OM	TOC	CaCO ₃	TN	P _{available} mg kg ⁻¹	Caracterización
	-----%-----				-----%-----					
1	72.3	15.5	12.2	4.59	4.65	2.08	0.35	0.16	117.4	- Contenido en MO
2	67.7	20.2	12.1	5.60	4.42	1.80	0.04	0.16	224.4	- N total (TN)
3	39.4	44.3	16.4	6.41	5.42	1.13	0.25	0.17	19.7	- CaCO ₃
4	69.1	17.8	13.1	7.04	4.33	1.86	0.32	0.08	6.3	- ClCe
5	46.7	40.1	13.2	9.11	3.75	1.14	32.14	0.07	8.7	- Cationes base
6	67.4	19.2	13.4	5.93	2.11	0.73	0.23	0.07	29.4	- P disponible
7	42.8	43.2	14.0	5.28	4.93	2.27	0.37	0.18	79.9	- Al, Fe, Mn
8	47.4	38.1	14.5	5.66	5.47	2.41	0.27	0.21	129.8	oxihidróxidos
9	39.5	44.3	16.2	5.05	8.86	2.90	0.64	0.26	85.5	
10	30.0	51.0	19.0	5.62	9.61	3.99	0.45	0.28	30.0	

Lixiviación de Cu

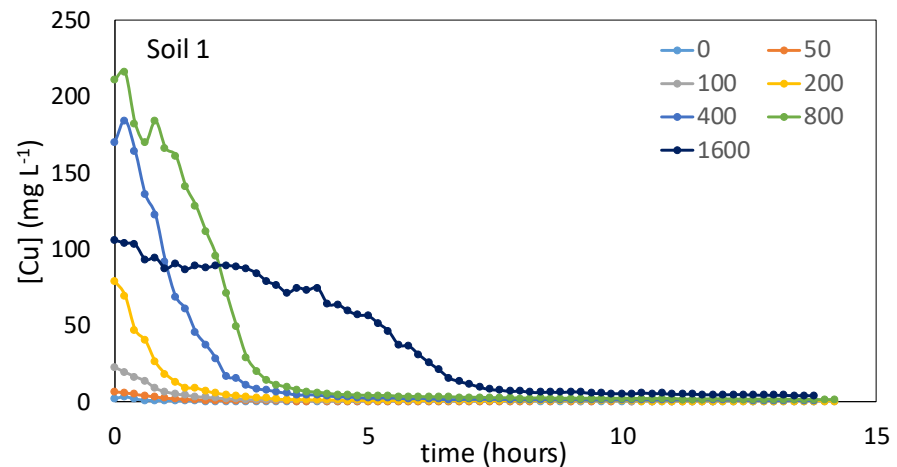
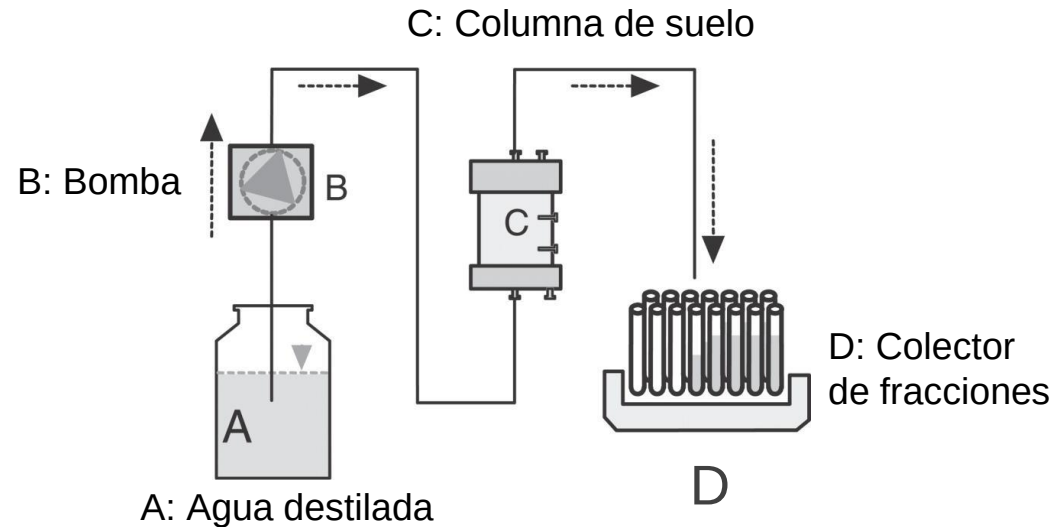
Experimento realizado en laboratorio en columnas a 25°C

Peor escenario posible:

- Experimentos realizados inmediatamente después de la adición de Cu
- Todo el Cu añadió junto (vs aplicaciones graduales)

Diseño experimental:

- Suelo (<2 mm) se contaminó con diferentes [Cu] como caldo bordelés: 0, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 mg·kg⁻¹
 - El Cu se añadió a partir de una suspensión acuosa con una espátula

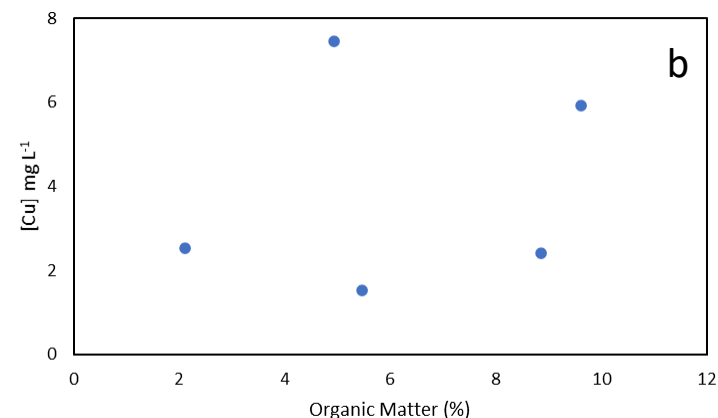
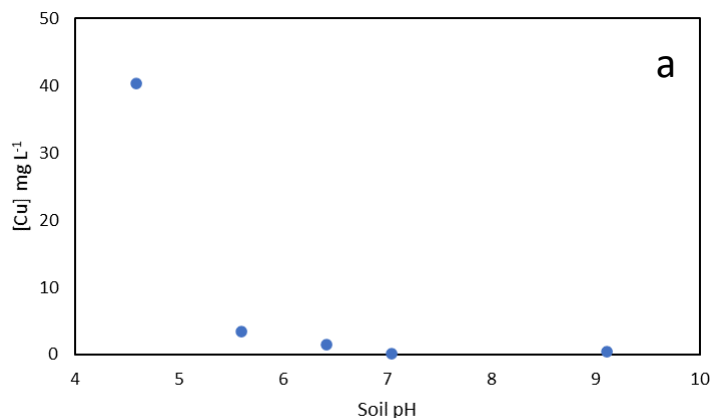


Lixiviación de Cu

Concentración media de Cu ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en la salida de la columna en respuesta al incremento de Cu en los suelos

	Soil									
[Cu] _{added}	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0	0.38	0.14	0.35	0.04	0.08	0.17	0.89	0.29	0.25	0.13
50	0.95	0.33	0.35	0.24	0.08	0.13	0.82	0.53	0.33	0.24
100	2.44	0.39	0.33	0.25	0.09	0.15	0.96	0.38	2.85	2.66
200	5.29	1.07	0.40	0.32	0.45	1.12	1.57	0.59	0.72	0.44
400	18.32	2.37	1.28	0.39	0.37	3.37	3.29	2.63	0.77	1.28
800	29.46	4.69	1.43	0.28	0.70	12.96	3.78	1.63	1.10	6.94
1600	40.40	3.39	1.47	0.19	0.49	2.52	7.46	1.52	2.41	5.93

Relación entre la **concentración media de Cu** en la salida de la columna y el **pH** del suelo en suelos con MO similar (A) **y MO** en suelos de pH similar



Evaluación de la biodisponibilidad del Cu y efectos sobre la **biota del suelo** mediante ensayos ecotoxicológicos estándar (ISO, OECD)

			<i>Eisenia fetida</i> Nº juveniles	<i>Medicago sativa</i> Peso seco plántula
pH	OM (%)	Cu (mg kg ⁻¹)	EC ₅₀ (mg Cu kg ⁻¹)	EC ₅₀ (mg Cu kg ⁻¹)
S1	4.6	4.65	23.01	*
S2	5.6	4.42	173.53	157.89
S3	6.4	5.42	130.11	234.83
S4	7.0	4.33	52.11	737.39
S5	9.1	1.50	324.48	>1000
S6	5.9	2.11	112.58	674.91
S7	5.7	5.66	25.28	185.51
S8	5.3	5.70	148.50	869.36
S9	5.1	8.05	208.03	288.30
S10	5.6	9.61	198.22	171.13

* No determinado: Menor que la [Cu] de estudio más baja (46 mg·kg⁻¹)

La flecha indica el incremento de EC₅₀ (↓ toxicidad)

- Parece que el pH del suelo y la OM no influenciaron en la biodisponibilidad de Cu para los organismos más vulnerables, como las lombrices
- Para las plantas terrestres, **la biodisponibilidad de Cu está controlada por el pH del suelo**: a menor pH, se necesita menos caldo bordelés para obtener una reducción significativa en la producción de biomasa de la planta
- Parece que el gradiente de **OM no se correlaciona con la biodisponibilidad de Cu y la fitotoxicidad**

Biota del suelo: Desarrollo de tolerancia de las comunidades bacterianas al Cu

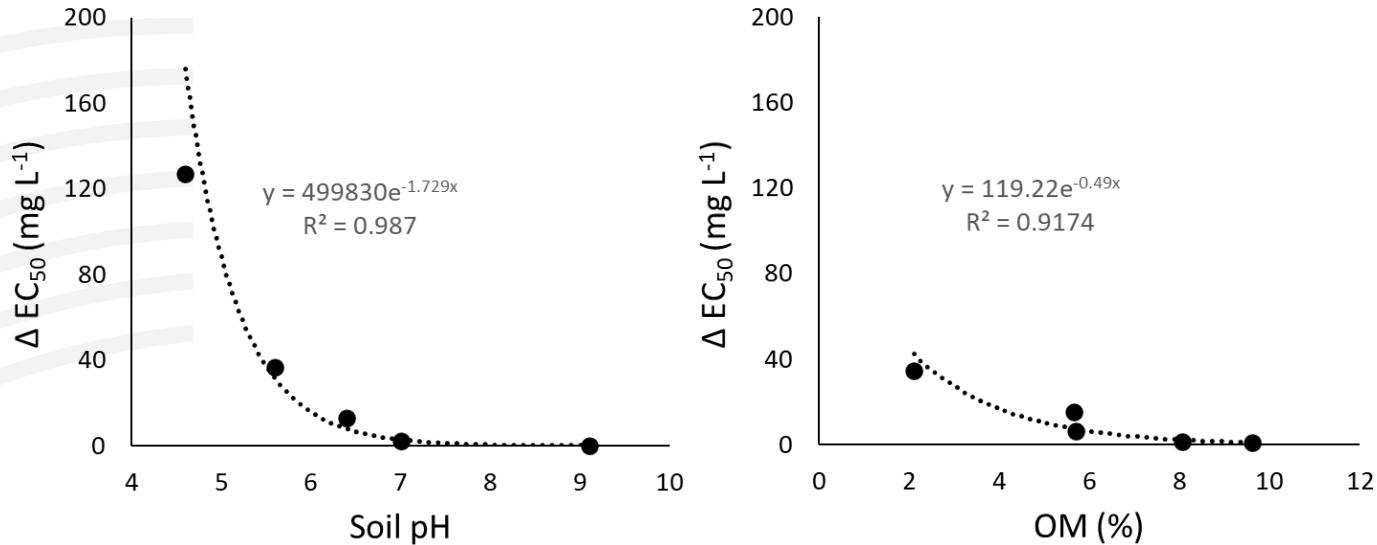
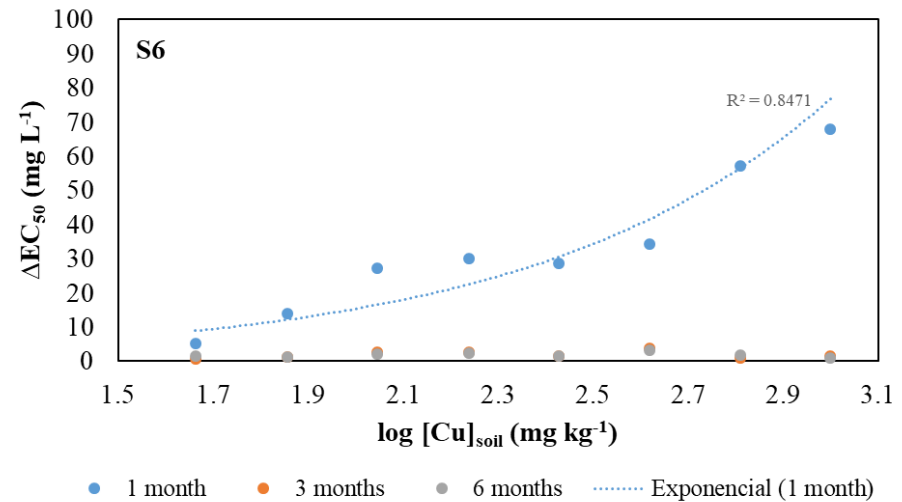
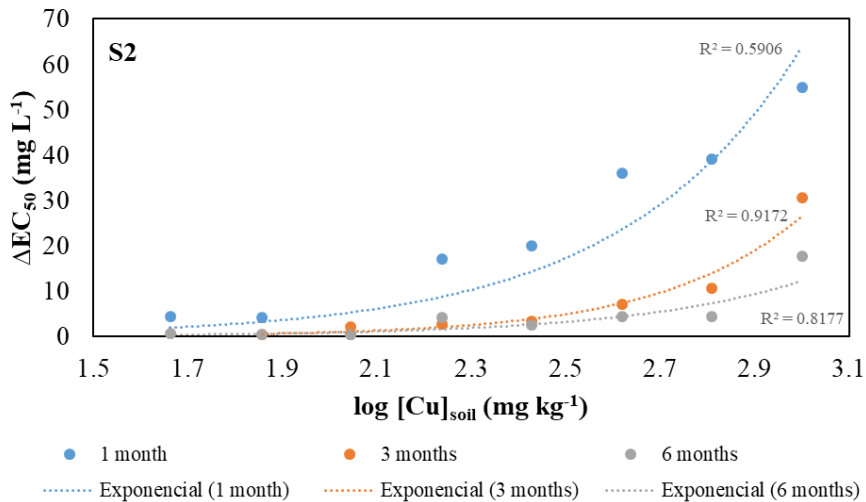


Figura 1. Incremento de tolerancia de las comunidades bacterianas al Cu: 416 mg·kg⁻¹ de Cu añadido al suelo. Influencia del pH del suelo y MO

- Tanto pH como el contenido en OM influenciaron el desarrollo de tolerancia de las comunidades bacterianas al Cu
- **Valores altos de pH y de OM favorecieron la reducción en el desarrollo de tolerancia de las comunidades bacterianas al Cu**
- **La magnitud de la influencia en el desarrollo de tolerancia de las comunidades bacterianas fue mayor en el caso del pH que del contenido en OM**

Biota del suelo: Efecto del *ageing* sobre el desarrollo de tolerancia de las comunidades bacterianas al Cu



- La tolerancia de la comunidad bacteriana al Cu disminuyó a medida que aumentó el tiempo de incubación
- **La toxicidad del Cu disminuye a lo largo del tiempo, probablemente debido a procesos de *ageing* en el suelo**

Evaluación de la movilidad del Cu mediante ensayos ecotoxicológicos con **especies acuáticas** (ISO, OECD)

				<i>Aliivibrio fischeri</i> Bioluminescencia	<i>Raphidocelis subcapitata</i> Tasa crecimiento	<i>Lemna minor</i> Tasa crecimiento
	pH	OM (%)	Cu (mg kg ⁻¹)	EC ₅₀ (mg Cu kg ⁻¹)	EC ₅₀ (mg Cu kg ⁻¹)	EC ₅₀ (mg Cu kg ⁻¹)
S1	4.6	4.65	310	↓ 8.91	↓ 35.26	↓ *
S2	5.6	4.42	104	↓ 45.27	↓ **	↓ 104.96
S3	6.4	5.42	143	↓ 228.40	↓ 531.42	↓ 298.93
S4	7.0	4.33	76	↓ >1000	↓ 727.15	↓ >1000
S5	9.1	1.50	77	↑ *	↑ >1000	↑ >1000
S6	5.9	2.11	75	126.27	127.32	51.47
S7	5.7	5.66	500	69.98	**	317.60
S8	5.3	5.70	386	164.86	**	825.61
S9	5.1	8.05	401	256.80	>1000	>1000
S10	5.6	9.61	46	193.14	**	271.06

- Parece que **la transferencia de Cu a la fase acuosa está controlada por el pH del suelo**
- En los suelos con valores de pH elevados la biodisponibilidad y toxicidad de Cu es comparable a la de suelos no contaminados
- **El contenido en MO parece no influir directamente en la toxicidad del Cu** para los organismos acuáticos

* No determinado: Menor que la [Cu] de estudio más baja (46 mg·kg⁻¹);

** No determinado: demasiada variabilidad en resultados para calcular EC₅₀;

La flecha indica el incremento de EC₅₀ (↓ toxicidad)

¿Cuál fue el suelo más vulnerable a la contaminación por Cu?

Los suelos **más ácidos** (S1, S2) fueron los **más vulnerables** a la contaminación por Cu, seguido por el suelo con el contenido **más bajo en OM**

Test	Gradiente de pH					Gradiente de OM				
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
Lixiviación de Cu	8	10	5	1	1	9	6	4	3	7
<i>Eisenia fetida</i>	5	6	7	10	4	9	3	2	1	8
<i>Medicago sativa</i>	10	8	7	3	1	4	6	2	5	9
Tolerancia Cu comunidades bacterianas	10	9	6	4	1	8	5	7	2	3
<i>Aliivibrio fischeri</i>	7	10	6	2	1	9	4	5	3	8
<i>Lemna minor</i>	10	8	6	1	1	9	5	2	1	7
TOTAL	50	51	37	21	9	48	29	22	15	42

Nivel de Cu en suelos de viñedo a partir del cual se debe actuar

	Lixiviación Cu	<i>E. fetida</i>	<i>M. Sativa</i>	Tol Bact Cu	<i>A. fischeri</i>	<i>L. minor</i>
pH < 5	350	333	<310	382	319	<310
pH 5 – 6	276	278	262	277	<149	209
pH 6 – 7	685	273	378	316	371	442
pH 7 – 8	>1676	128	813	>1676	9770	>1676
pH > 8	>1677	401	>1677	>1677	>1677	>1677

Corteza de pino
+ concha de
mejillón (1:1)

6 g kg⁻¹



12 g kg⁻¹



24 g kg⁻¹



Dos de los **suelos más vulnerables** (Actividad 2.3) se remediaron mediante la **aplicación de una enmienda: mezcla de corteza de pino y concha de mejillón**

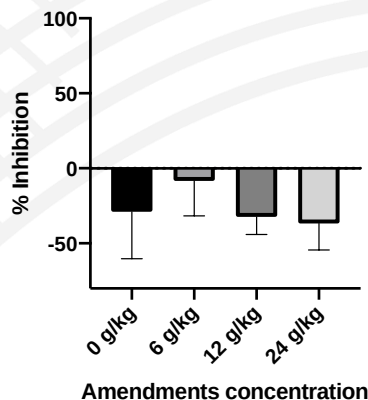
Se evaluó **la calidad del suelo (hábitat, producción y funciones de retención)** después de la **adición de las enmiendas** en función de los efectos sobre los organismos terrestres y acuáticos, mediante la realización de ensayos ecotoxicológicos:

Eisenia fetida, *Medicago sativa*, *Aliivibrio fischeri* y *Lemna minor*

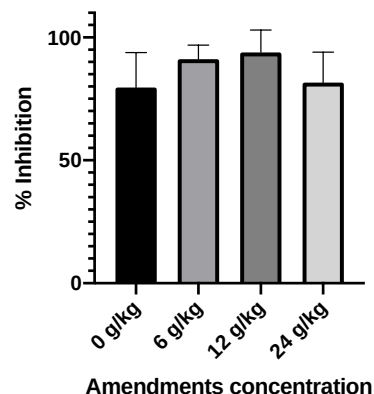
S6 (pH 5.9, 2.11%) se incubó durante 1 mes con las enmiendas

Objetivo: evaluar las mejoras en la calidad del suelo, ya que se determinaron efectos negativos en este suelo incluso sin adición de Cu

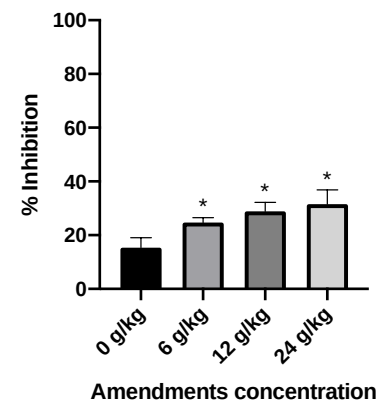
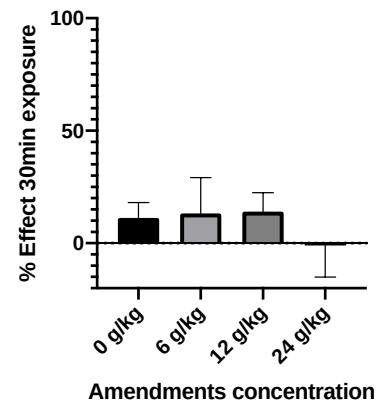
% inhibition *E. fetida* reproduction



% inhibition *M. sativa* shoot dry weight



A. fischeri: bioluminescence inhibition % inhibition *L. minor* dry weight



No se encontraron mejoras significativas para los efectos ecotoxicológicos

En el caso de *Lemna minor*, la adición de enmiendas dio lugar a un ligero, pero significativo, aumento del porcentaje de inhibición del crecimiento

S3 (pH 6.4, 5.42 %OM) se contaminó con 8 concentraciones de Cu (46, 72, 111, 173, 268, 416, 645, 1000 mg·kg⁻¹) y se incubó durante 1 mes

Después de la incubación con el Cu, **el suelo se incubó con las enmiendas**, para evaluar sus efectos sobre la mitigación de la toxicidad del Cu

- Para la mayoría de resultados, **los valores de EC₅₀ estimados previamente fueron menores**, para el mismo suelo contaminado con Cu
- Para todos los organismos (terrestres y acuáticos), **la adición de enmiendas parece mitigar la toxicidad del Cu**, aunque **no en una relación lineal con la concentración** de enmiendas
- **La dosis 24 g·kg⁻¹ parece garantizar una reducción de la toxicidad del Cu para todas las especies testadas**

Organismo	EC ₅₀ A2.2 (mg Cu kg ⁻¹)	EC ₅₀ A2.4 (mg Cu kg ⁻¹)		
		6 g kg ⁻¹	12 g kg ⁻¹	24 g kg ⁻¹
<i>Eisenia fetida</i>	130.11	95.69	132.7	171.76
<i>Medicago sativa</i>	234.83	331.36	436.75	354.96
<i>Allivibrio fischeri</i>	228.40	334.72	148.13	>1000
<i>Lemna minor</i>	298.93	>1000	>1000	>1000

Conclusiones

La vulnerabilidad de los suelos de viñedo a la contaminación con cobre aumenta al reducirse el pH del suelo

Por encima de pH 7 los efectos del Cu sobre la biota del suelo se reducen significativamente, excepto para lombrices (*E. fetida*)

El uso de bioadsorbentes que incrementen el pH y contenido en carbono del suelo pueden ayudar a reducir los impactos del Cu sobre la biota del suelo