

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Microbiología III



**VARIACIÓN DE LA ACTIVIDAD FISIOLÓGICA DE LA
MICROFLORA DEL SUELO EN TERRENOS AFECTADOS
POR ACTIVIDADES MINERAS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Francisco Javier Díaz Puente

Bajo la dirección del doctor

Avelino García Álvarez

Madrid, 2013



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE ECONOMÍA
Y COMPETITIVIDAD

Ciemat

Centro de Investigaciones
Energéticas, Medioambientales
y Tecnológicas



**VARIACIÓN DE LA ACTIVIDAD FISIOLÓGICA DE LA
MICROFLORA DEL SUELO EN TERRENOS AFECTADOS
POR ACTIVIDADES MINERAS**

FRANCISCO JAVIER DÍAZ PUENTE

TESIS DOCTORAL

MADRID 2012

DIRECCIÓN: DR. AVELINO GARCÍA ÁLVAREZ



Departamento de Medio Ambiente
CIEMAT

Departamento de Microbiología III
Facultad de Biología
UCM



Variación de la actividad fisiológica de la microflora del suelo en terrenos afectados por actividades mineras

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTADA POR:

Francisco Javier Díaz Puente

Vº Bº del Director

Dr. Avelino García Álvarez
Investigador Titular del
Departamento de Medio Ambiente del
CIEMAT

Hay hombres que luchan un día
y son buenos.
Hay otros que luchan un año
y son mejores.
Hay quienes luchan muchos años
y son muy buenos.
Pero hay los que luchan toda la vida:
esos son los imprescindibles.

Este es un fragmento de un poema de Bertold Brecht “alabanza de los luchadores”, incluido en una canción de Silvio Rodríguez “Sueño con serpientes”. Me recuerda a la primera profesora con la que hablé en esta Facultad, la Dra. Esperanza Martínez Conde, para mi ella es de los últimos.... de quienes luchan toda la vida, de los imprescindibles, una mujer llena de energía y de compromiso que me hacía el grandísimo honor de llamarme “el trabajador”. Esperanza, gracias por tu ejemplo.

Quiero dedicar este trabajo a mi familia, mi último refugio, a mi madre Juli a, y a mis tías y casi madres, Tere y Feli, que me cuidaron y educaron, a Mayte por ser mi hermana y concederme el honor de tener esos sobrinos y .. por el flan de coco y a mi mujer, Mercedes por su apoyo y comprensión, sin ella este trabajo no merecería la pena.

AGRADECIMIENTOS	III
ÍNDICE GENERAL	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABLAS	XIII
ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS	XV
NOMENCLATURA DE LOS PUNTOS DE MUESTREO	XVII

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el Departamento de Medio Ambiente del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), en el que estoy trabajando desde el año 1979. Quiero personificar mi agradecimiento a esta Institución en el Dr. Juan Antonio Rubio, Director General durante cuyo mandato la Unidad de Conservación y Recuperación de Suelos fue tratada con mayor justicia, coincidiendo con la Dra. Rosa de Vidania Muñoz en la Dirección del Departamento de Medio Ambiente, apoyada por Diana Alonso, a las que considero tanto como compañeras como amigas.

Agradezco al Dr. García Álvarez, por su dedicación como director de este trabajo y por la confianza que depositó en mí para participar en los Proyectos que el CIEMAT ha desarrollado en el entorno de El Bierzo, en colaboración con CIUDEN. También quiero agradecer a la Dra. Millán Gómez, además de por su amistad, por su confianza como Investigadora Principal incluyéndome en los proyectos que ha obtenido para los trabajos realizados en la Comarca Minera de Almadén. Proyectos:

REUSA (Ref. CTM2005-04809/TECNO) del Ministerio de Educación y Ciencia y
MERCURIO (Ref.: CGL2009-13171-C03-02. Subprograma BTE) del Ministerio de Ciencia e Innovación (Plan Nacional de I+D+I)

La Microbiología Ambiental en el CIEMAT tiene un nombre, Vergelina Rodríguez Gallego, Verge, siempre te estaré agradecido, no sólo por tu aportación a este trabajo sino por lo que he podido aprender de ti, te echo de menos –y a tus tartas de manzana también-. En los aspectos de descripción ambiental debo agradecer la capacidad didáctica a Manuel Rodríguez Rastrero que con mucha paciencia me ayudó a entender algo de taxonomía de suelos. También quiero expresar mi agradecimiento por el trabajo compartido con el Dr. Mejuto en las campañas de El Bierzo y su compañía en los partidos de la Eurocopa del 2008, coincidiendo con ... una campaña de muestreo.

Quiero mostrar mi agradecimiento a las personas de la Unidad de espectrometría de Masas y Aplicaciones Geoquímicas del Departamento de Tecnología del CIEMAT, en especial a María Dolores Sánchez Ledesma y a Miguel Sánchez Sánchez por el trabajo analítico aportado a esta memoria.

Estoy agradecido a mis compañeros de la Unidad de Conservación y Recuperación de Suelos, Thomas, Olga, Maria Jose, Ana Isabel, Celia, Sandra, Javi, Margarita, Raul, Jose Carlos, Juliana y Carmen por su apoyo y compañía.

Agradezco al Dr. Sánchez Gimeno sus comentarios a versiones previas de este trabajo que contribuyeron en su mejora y en mi tranquilidad y confianza. También quiero destacar la contribución personal e institucional de mi amigo Francisco Javier Monge Montuno y de la Unidad de Gestión de Recursos de la Información en la corrección, edición e impresión de este trabajo. Estoy muy agradecido a Isabel Sorlózano por su ayuda en traducciones varias y por que siempre tiene una ☺, y al resto de amigas del CIEMAT que me han apoyado y se han ofrecido a ayudarme, Elena, Charito, Adelaida, Socorro, Begoña, gracias por estar ahí.

ÍNDICE GENERAL

I.- INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

I.1.- El suelo, recurso natural y sistema complejo.	1
1.2.- Acción antrópica y degradación del recurso edáfico.	3
1.3.- Variables indicadora de la actividad del subsistema edáfico.	5
1.4.- Objetivos.	7

II.- ANTECEDENTES

II.1.- Espacios degradados por las actividades mineras y/o metalúrgicas. Los casos de Almadén y de El Bierzo.	8
II.1.1.- Efectos de la minería y metalurgia metálica en la Comarca de Almadén.	8
II.1.2.- La minería del carbón en la Comarca de El Bierzo.	18

III.- MATERIALES Y MÉTODOS

III.1.- Áreas de estudio.	39
III.1.1.- Almadén.	40
III.1.2.- El Bierzo	63
III.2.- Metodología analítica.	
III.2.1- Determinaciones físicas.	81
III.2.2.- Determinaciones físico-químicas.	81
III.2.3.- Determinaciones químicas.	82
III.2.4.- Determinaciones respirométricas.	86
III.2.5.- Ensayos microbiológicos no respirométricos	90
III.2.6.- Análisis de datos	91

IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

IV.1.- Características físicas y físico-químicas de los suelos de Almadén.	92
IV.2.- Determinaciones químicas de los suelos de Almadén	102
IV.3.- Actividad biológica en los suelos de Almadén	129
IV.3.1.- Recuentos microbiológicos	129
IV.3.2.- Variables de la actividad microbiológica.	135
IV.4.- Análisis conjunto de las variables estudiadas.	157
IV.5.- Discusión general. Almadén.	169

IV.6.- Características físicas y físico-químicas de los suelos de El Bierzo.	179
IV.7.- Determinaciones químicas en los suelos de El Bierzo.	189
IV.8.- Actividad biológica en los suelos de El Bierzo.	
IV.8.1.- Recuentos microbiológicos	204
IV.8.2.- Variables de la actividad microbiológica.	209
IV.9.- Análisis conjunto de las variables estudiadas	231
IV.10.- Discusión general. El Bierzo.	238
V. CONCLUSIONES	241
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXO I. ESTADÍSTICA	

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1- Red fluvial en la zona de trabajo de El Bierzo.</i>	22
<i>Figura 2 .- Situación geográfica de Almadén.</i>	40
<i>Figura 3 .- Almadén, fotografía aérea incluyendo la localización de los puntos de muestreo.</i>	41
<i>Figura 4.- Hornos de aludeles o Bustamante en el cerco de Almadén.</i>	47
<i>Figura.5.- Precipitación anual, estación meteorológica de Almadén – Minas.</i>	49
<i>Figura .6.- Precipitación anual, estación meteorológica de Gargantiel.</i>	50
<i>Figura 7.- Punto de muestreo AM(3b). Quinto del Hierro (vega).</i>	53
<i>Figura 8.- Punto de muestreo AM(3c). Quinto del Hierro (mina).</i>	54
<i>Figura 9.- Parcela AM(4). Vista general de la parte media-baja de la loma.</i>	55
<i>Figura 10.- Parcela AM(5) desde la entrada al cerco.</i>	56
<i>Figura 11.- Vista aérea de los hornos de Almadenejo en la parcela AM(5)</i>	57
<i>Figura 12.- Panorámica de las parcelas DP(6), AR(7) y BM(8) en la parte alta de la Dehesa de Castilseras.</i>	58
<i>Figura 13.- Aspecto de la parcela DP(6) en el punto DP(6.3), durante la toma de muestras para densidad aparente en otoño de 2008.</i>	58
<i>Figura 14.- Detalle de la parcela AR(7), desde el punto de muestreo AR(7.10).</i>	59
<i>Figura 15.- Aspecto del bosque donde se localizan los puntos BM(8.2) y (BM(8.3)</i>	61
<i>Figura 16.- Localización del punto de muestreo AM(9.4) en la pista, entre una sección de la escombrera y la Laguna de El Entredicho.</i>	61
<i>Figura 17.- Proximidad del punto de muestreo AM(9.4).</i>	62
<i>Figura 18.- Parcela AR(S).</i>	62
<i>Figura 19.- Localización geográfica de la zona de estudio de El Bierzo.</i>	63
<i>Figura 20.- Localización de los puntos de muestreo en El Bierzo.</i>	64
<i>Figura 21.- Aspecto de la zona en las proximidades del punto de muestreo NA(B1).</i>	73
<i>Figura 22.- Toma de muestras en NA(B2).</i>	74
<i>Figura 23.- Toma de muestras en ES(B3). A la derecha mina Don José.</i>	74

<i>Figuras 24 y 25.- Aspecto de las proximidades al punto de muestreo PAR(B4).</i>	75
<i>Figuras 26 y 27.- Aspecto de las proximidades al punto de muestreo PAR(B5).</i>	76
<i>Figura 28.- Punto de muestreo ES(B6).</i>	76
<i>Figuras 29 y 30.- zona de muestreo PAR(B7).</i>	77
<i>Figura 31.- Momento del muestreo en PAR(B8).</i>	78
<i>Figura 32.- Muestreo en ES(B9). Al fondo, abajo, Tremor.</i>	78
<i>Figura 33.- Muestreo en ES(B10).</i>	79
<i>Figura 34.- Muestreo en ES(B11).</i>	80
<i>Figura 35.- Densidad aparente. ($g\ cm^{-3}$).</i>	92
<i>Figura 36.- Análisis granulométrico, muestras de Almadén otoño de 2006 y otoño de 2007.</i>	93
<i>Figura 37.- Análisis granulométrico, muestras de Almadén primavera de 2007 y primavera de 2008.</i>	94
<i>Figura 38.- Representación del análisis granulométrico en el triángulo de texturas, muestras de Almadén otoño de 2006 y otoño de 2007.</i>	95
<i>Figura 39.- Representación del análisis granulométrico en el triángulo de texturas, muestras de Almadén primavera de 2007 y primavera de 2008.</i>	95
<i>Figura 40.- Máxima capacidad de retención de agua (en $ml\ H_2O\ 100\ g^{-1}\ s.s.$).</i>	97
<i>Figura 41.- Humedad “in situ” (en % WHC).</i>	98
<i>Figura 42.- Humedad “in situ” (en % p.f.).</i>	99
<i>Figura 43.- pH en H_2O.</i>	100
<i>Figura 44.- Conductividad a $25^{\circ}C$ ($dS\ m^{-1}$) $\times 10^{-3}$.</i>	101
<i>Figura 45. – Carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}) (% p.s).</i>	104
<i>Figura 46.- Diagrama de caja, distribución de carbono orgánico fácilmente oxidable según la época de muestreo.</i>	106
<i>Figura 47.- Diagrama de caja, distribución de carbono orgánico fácilmente oxidable según el uso.</i>	107
<i>Figura 48.- Carbono orgánico total (COT) (% p.s.).</i>	108
<i>Figura 49.- Relación COT/CO_{FO}.</i>	109

<i>Figura 50.- Diagrama de caja, relación COT/CO_{FO}, según la época de muestreo.</i>	110
<i>Figura 51.- Diagrama de caja, relación COT/CO_{FO}, según el uso del suelo.</i>	111
<i>Figura 52.- Carbono total (% p.s.).</i>	112
<i>Figura 53.- Carbono inorgánico (% p.s.).</i>	113
<i>Figura 54.- Carbonatos (% p.s.)</i>	114
<i>Figura 55.- Carbono soluble (en mg kg⁻¹).</i>	117
<i>Figura 56.- Carbono soluble (como % de COT).</i>	118
<i>Figura 57.- Nitrógeno total (% p.s.).</i>	119
<i>Figura 58.- Relación C/N.</i>	120
<i>Figura 59.- Mercurio total (mg Hg kg⁻¹ suelo).</i>	122
<i>Figura 60.- Concentración de Pb en porcentaje del límite (R.D. 1310/1990).</i>	127
<i>Figura 61.- Concentración de Ni y Zn en porcentaje del límite (R.D. 1310/1990).</i>	128
<i>Figura 62.- Heterótrofos totales (BHT g⁻¹).</i>	130
<i>Figura 63.- Actinomicetos (UFC g⁻¹).</i>	131
<i>Figura 64.- Relación BHT/ACT como % de ACT en BHT.</i>	132
<i>Figura 65.- Bacterias reductoras de sulfato (UFC g⁻¹).</i>	134
<i>Figura 66.- Carbono de la masa microbiana obtenido por fumigación-extracción, C_{mic} (FE), en mg C_{mic} kg⁻¹.</i>	137
<i>Figura 67.- carbono de la masa microbiana obtenido por respirometría inducida por sustrato C_{mic}(SIR) (mg C_{mic} Kg⁻¹).</i>	139
<i>Figura 68.- Distribución valores de masa microbiana (C_{mic}) según la época de muestreo.</i>	140
<i>Figura 69.- Distribución valores de masa microbiana (C_{mic} (SIR)) según el uso del suelo.</i>	141
<i>Figura 70.- Respirometría basal (mg CO₂ kg⁻¹h⁻¹).</i>	142
<i>Figura 71.- Diagrama de caja, respirometría basal según la época de muestreo.</i>	143
<i>Figura 72.- Diagrama de caja, de respirometría basal según el uso del suelo.</i>	144
<i>Figura 73.- Cociente metabólico (mg C-CO₂ g C_{mic}⁻¹ h⁻¹)</i>	146

<i>Figura 74.- Diagrama de caja, cociente metabólico según la época de muestreo.</i>	147
<i>Figura 75.- Diagrama de caja, cociente metabólico según el uso de suelo.</i>	148
<i>Figura 76.- Tasa máxima de respiración ($\text{mg CO}_2 \text{ h}^{-1} 100 \text{ g}^{-1}$)</i>	149
<i>Figura 77.- Diagrama de caja, tasa máxima de respiración según la época de muestreo.</i>	150
<i>Figura 78.- Diagrama de caja, tasa máxima de respiración el uso del suelo.</i>	151
<i>Figura 79.- Relación $C_{\text{mic}}/\text{CO}_{\text{FO}}$, como porcentaje de C_{mic} en CO_{FO}.</i>	152
<i>Figura 80.- Diagrama de caja, relación $C_{\text{mic}}/C_{\text{org}}$ según la época de muestreo.</i>	153
<i>Figura 81.- Diagrama de caja, relación $C_{\text{mic}}/C_{\text{org}}$ según el uso del suelo.</i>	154
<i>Figura 82.- Cociente respiratorio, campañas otoño de 2006 y otoño de 2007.</i>	155
<i>Figura 83.- Cociente respiratorio, campañas primavera de 2007 y primavera de 2008.</i>	156
<i>Figura 84.- Dendograma clasificadorio análisis clúster.</i>	168
<i>Figura. 85.- Densidad aparente (g cm^{-3}).</i>	180
<i>Figura. 86.- Análisis granulométrico.</i>	181
<i>Figura. 87.- Representación del análisis granulométrico en el triángulo de texturas.</i>	182
<i>Figura. 88.- Capacidad máxima de retención de agua (en $\text{ml H}_2\text{O } 100 \text{ g}^{-1} \text{ s.s.}$).</i>	184
<i>Figura. 89.- Humedad “in situ” (en % WHC).</i>	185
<i>Figura. 90.- Humedad “in situ” (en % p.f.).</i>	186
<i>Figura. 91.- pH en H_2O.</i>	187
<i>Figura 92.- Conductividad a 25°C (dS m^{-1}) $\times 10^{-3}$.</i>	188
<i>Figura 93.- Carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}) (% p.s).</i>	190
<i>Figura 94.- Diagrama de caja, distribución de carbono orgánico fácilmente oxidable según la época de muestreo.</i>	191
<i>Figura 95.- Diagrama de caja, distribución de carbono orgánico fácilmente oxidable según el uso del suelo.</i>	192
<i>Figura. 96.- Carbono orgánico total (COT) (% p.s.).</i>	193
<i>Figura. 97.- Carbono total (% p.s.).</i>	194

<i>Figura. 98.- Relación COT/CO_{FO}.</i>	195
<i>Figura. 99- Diagrama de caja relación COT/CO_{FO} según la época de muestreo.</i>	196
<i>Figura. 100.- Diagrama de caja relación COT/CO_{FO} según usos del suelo.</i>	197
<i>Figura. 101.- Carbono inorgánico (% p.s.).</i>	198
<i>Figura 102.- Nitrógeno total (% p.s.).</i>	199
<i>Figura 103.- Relación C/N.</i>	200
<i>Figura 104.- Cationes solubles monovalentes Na y K (mg L⁻¹).</i>	201
<i>Figura 105.- Cationes solubles bivalentes Mg y Ca (mg L⁻¹).</i>	202
<i>Figura 106.- Heterótrofos totales (BHT g⁻¹).</i>	205
<i>Figura 107.- Actinomicetos (ACT g⁻¹).</i>	206
<i>Figura 108.- Relación heterótrofos totales/actinomicetos.</i>	207
<i>Figura 109.- Bacterias reductoras de sulfato (UFC g⁻¹).</i>	208
<i>Figura 110.- Carbono de la masa microbiana (mg C_{mic} kg⁻¹).</i>	210
<i>Figura 111.- Diagrama de caja, distribución de carbono de la masa microbiana según la época de muestreo.</i>	211
<i>Figura 112.- Diagrama de caja, distribución de carbono de la masa microbiana según el uso del suelo.</i>	212
<i>Figura 113.- Respirimetría basal (mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹).</i>	213
<i>Figura 114.- Diagrama de caja, distribución de respirimetría basal según la época de muestreo.</i>	214
<i>Figura 115.- Diagrama de caja, distribución de respirimetría basal según el uso/tipología de suelo.</i>	214
<i>Figura 116.- Cociente metabólico (mg CO₂-C g C_{mic}⁻¹ h⁻¹).</i>	215
<i>Figura 117.- Diagrama de caja, distribución de cociente metabólico según la época de muestreo.</i>	216
<i>Figura 118.- Diagrama de caja, distribución de cociente metabólico según el uso/tipología de suelo.</i>	217
<i>Figura 119.- Tasa máxima de respiración (mg CO₂ 100 g⁻¹ h⁻¹).</i>	222

<i>Figura 120.- Diagrama de caja, distribución de tasa máxima de respiración según la época de muestreo.</i>	223
<i>Figura 121.- Diagrama de caja, distribución de tasa máxima de respiración según uso/tipología de suelo.</i>	224
<i>Figura 122.- Relación C_{mic}/CO_{FO}, como porcentaje de C_{mic} en CO_{FO}.</i>	225
<i>Figura 123.- Diagrama de caja, distribución de la relación C_{mic}/C_{org} según la época de muestreo.</i>	228
<i>Figura 124.- Diagrama de caja, distribución de la relación C_{mic}/C_{org} según uso/tipología de suelo.</i>	229
<i>Figura 125.- Cociente respiratorio otoño 2006.</i>	230
<i>Figura 126.- Cociente respiratorio primavera 2007.</i>	231
<i>Figura 127. Dendograma del análisis clúster.</i>	237

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1.- Concentración de mercurio en matrices ambientales. Almadén.</i>	10
<i>Tabla 2. Contenido de Hg (total, soluble e intercambiable) en muestras de suelo.</i>	13
<i>Tabla 3.- Distribución de escombreras por municipios.</i>	24
<i>Tabla 4.- Elementos traza en suelos. El Bierzo.</i>	25
<i>Tabla 5.- Puntos de muestreo en Almadén.</i>	52
<i>Tabla 6.- Puntos de muestreo en El Bierzo.</i>	72
<i>Tabla 7.- puntos de muestreo reseñados en los triángulos de texturas.</i>	96
<i>Tabla 8.- concentración de metales pesados</i>	125
<i>Tabla 9.- Matriz de componentes rotados. Método de extracción por componentes principales. Rotación Varimax con normalización Kaiser.</i>	158
<i>Tabla 10.- Estadísticos del análisis discriminante en los tres primeros pasos.</i>	162
<i>Tabla 11.- Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes canónicas.</i>	163
<i>Tabla 12.- Funciones en los centroides de los grupos.</i>	163
<i>Tabla 13.- Resultados de la clasificación.</i>	165
<i>Tabla 14.- Asignación numérica para los puntos de muestreo reseñados en el triángulo de texturas.</i>	183
<i>Tabla 15.- Matriz de componentes rotados. Método de extracción por Análisis de componentes Principales y rotación Varimax con normalización Kaiser.</i>	232
<i>Tabla 16.- Estadísticos del análisis discriminante en los dos primeros pasos.</i>	235
<i>Tabla 17.- Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes canónicas.</i>	235
<i>Tabla 18.- Funciones en los centroides de los grupos.</i>	236
<i>Tabla 19.- Resultados de la clasificación.</i>	236

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

ACT	Actinomicetos
AENOR	Asociación Española de Normalización y Acreditación
ANOVA	Análisis de la varianza
BOCM	Boletín Oficial de la Comunidad de Madrid
BOE	Boletín Oficial del Estado
BCR	Bureau Communautaire de Référence
BHT	Bacterias heterótrofas totales
BRS	Bacterias Reductoras del Sulfato
CIEMAT	Centro de Investigaciones Energéticas Medioambientales y Tecnológicas
CIUDEN	Fundación Ciudad de la Energía
CM	Comunidad Autónoma de Madrid
C_{mic}	Carbono de origen microbiano
C_{mic} (FE)	Carbono de origen microbiano obtenido por el método de fumigación - extracción
C_{mic} (SIR)	Carbono de origen microbiano obtenido por respirometría inducida por substrato
C_{mic}/C_{org}	Relación entre el carbono de origen microbiano y el carbono orgánico
CO_{FO}	Carbono orgánico fácilmente oxidable
C_{org}	Carbono orgánico –esta notación se realiza sólo al referirse a la relación C _{mic} /C _{org}
COT	Carbono Orgánico Total
CRM	Certified Reference Material
CSIC	Consejo Superior de Investigaciones Científicas
CT	Carbono Total
DECHEMA	Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie E.V.
EPA	Environmental Protection Agency
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FE	Fumigation extraction
HSD	Honestly Significant Difference
HWSC	Hot Water Soluble Carbon
IGME	Instituto Geológico y Minero de España
I.G.N.	Instituto Geográfico Nacional
IBMWP	Iberian Biological Monitoring Working Party
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy

ISSS	International Society of Soil Science
MIRR	Maximum Initial Respiratory Response
N.D.	No determinado
NMP	Número más probable
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
$q\text{CO}_2$	Cociente metabólico
r	Coefficiente de correlación de Pearson
RD	Real Decreto
RQ	Cociente respiratorio
SIEMCALSA	Sociedad de Investigación y Explotación Minera de Castilla y León
Sig.	Nivel de significación
SIR	Substrate induced respirometry
SRM	Standard Reference Material
TNT	Trinitrotolueno
TSA	Tripticasa soja agar
TSB	Tripticasa soja broth
UFC	Unidad Formadora de Colonias
UMINSA	Unión Minera del Norte, S.A.
UNE	Una Norma Española
USDA	United States Department of Agriculture
WHC	Water Holding Capacity
WSC	Water Soluble Carbon
XANEX	X-ray Absorption Near Edge Structure

NOMENCLATURA DE LOS PUNTOS DE MUESTREO

La denominación de los puntos de muestreo en el escenario de **Almadén** está compuesta por:

Dos letras mayúsculas que hacen referencia al uso o estado de la parcela experimental, estos códigos, para Almadén han sido:

CÓDIGO	DEFINICIÓN
AM	Afectada por Minería o Metalurgía. Se ha usado para denotar aquellas parcelas donde, independientemente de su uso actual, se ha detectado algún tipo de afectación por actividades mineras o metalúrgicas.
DP	Dehesa de Pasto, en este caso es ganado ovino y hace referencia a un redil amplio al aire libre
AR	ARada, son parcelas donde se ha practicado o practica laboreo convencional.
BM	Bosque Mediterráneo, es un encinar muy cerrado, poco accesible y apenas alterado por actividad antrópica.

Un número o letra que hace referencia a la parcela experimental en la que se han tomado las muestras. Los números de las parcelas son del 3 al 9 y además una parcela denominada “U”.

Dentro de cada parcela el punto exacto de muestreo se identifica mediante un número, excepto en el caso de la parcela 3 donde se identifica por una letra.

Ocasionalmente se puede asociar un punto de muestreo a un momento del muestreo, en esos casos, el código de uso y el número de muestreo irán seguidos de la letra N para las muestras tomadas en otoño y M para las muestras tomadas en primavera, seguidas de los números 06, 07 ó 08 haciendo referencia a los años 2006, 2007 o 2008.

La denominación de los puntos de muestreo en el escenario de **El Bierzo** está compuesta por:

Dos o tres letras mayúsculas que hacen referencia al uso o estado de la parcela experimental, estos códigos, para Almadén han sido:

CÓDIGO	DEFINICIÓN
NA	Hacen referencia a zonas que hemos considerado No Alteradas
PAR	Pastos y Riberas.
ES	Escombreras.

Al código le sigue la letra B y un número que hace referencia al número de la parcela experimental.

Ocasionalmente se puede asociar un punto de muestreo a un momento del muestreo, en esos casos, el código de uso y el número de muestreo irán seguidos de la letra N para las muestras tomadas en otoño y M para las muestras tomadas en primavera, seguidas de los números 06, ó 07 haciendo referencia al año 2006 o 2007.

I.- INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.

I.1.- El suelo, recurso natural y sistema complejo.

El suelo es un componente fundamental para el soporte y desarrollo de los ecosistemas terrestres. Su formación es muy lenta, y en ella intervienen procesos climatológicos, geológicos y biológicos dando como resultado la interfase que constituye la capa superior de la corteza terrestre. El suelo, junto con la atmósfera y el agua, son elementos fundamentales para el soporte de la vida y por tanto de la especie humana. El suelo se considera un recurso no renovable a escala de generaciones humanas, siendo un sistema abierto, dinámico y complejo, pero es un medio vulnerable y susceptible de alterarse y perder su estado estacionario.

El suelo, en su estructura tridimensional incluye tres fases, una materia sólida (órgano-mineral), pero porosa, donde se albergan las fases líquida y gaseosa. Las características de ellas y su relación con la materia viva del suelo condicionarán los rasgos peculiares del sistema.

La **fase sólida** está constituida por los minerales meteorizados procedentes de la roca madre y por la materia orgánica procedente de la vegetación y de la fauna edáfica. En la parte inorgánica, las arcillas ejercen una gran influencia sobre las propiedades del suelo; estas propiedades también se ven muy influenciadas por el contenido en materia orgánica, que además alberga una parte activa, la masa microbiana del suelo. La cantidad de **agua en el suelo** y la forma y la intensidad en la que ésta es retenida son las variables críticas en las tasas y direcciones de los procesos que tienen lugar en el suelo en las escalas espacial, temporal y funcional. Esto incluye la actividad biológica y la mayoría de los procesos químicos y físico-químicos que ocurren en el suelo. El volumen de poros del suelo no relleno con agua líquida constituye la **atmósfera del suelo**, formada a su vez por vapor de agua y por una mezcla de gases que puede ser diferente a la mezcla de gases del aire. Así, la humedad relativa de la atmósfera en los poros del suelo será mayor, al igual que la concentración de dióxido de carbono, que la concentración atmosférica.

La composición de la mezcla de gases de la atmósfera del suelo resulta crítica en la actividad de los organismos del suelo. Por tanto, la concentración de oxígeno condicionará los procesos aerobios, que son los más activos en la descomposición de la materia orgánica y los ligados a la respiración, especialmente en la rizosfera. Lógicamente la realización de los procesos aerobios está condicionada tanto por la presencia de oxígeno como por la posibilidad de que circule el dióxido de carbono, evitando una acumulación excesiva de este gas.

La vegetación, en su parte aérea (epigea), aporta la energía y materiales al suelo en forma de necromasa. En la parte hipogea, con el desarrollo radicular, contribuye a la estructura del suelo confiriéndole determinadas propiedades que facilitan el intercambio de gases, agua y nutrientes, además de ofrecer un soporte para el crecimiento y desarrollo de microorganismos, con algunos de los cuales la raíz establece unas relaciones muy estrechas, como es el caso de las micorrizas.

La **biocenosis edáfica** es una parte esencial del suelo e interviene tanto en los procesos de formación, como en el mantenimiento de la funcionalidad del sistema, siendo la responsable principal de los flujos de materia y energía en el medio edáfico.

Todos los organismos del suelo forman parte, de una u otra forma, de la red trófica que se establece en el suelo. Los microorganismos van a desarrollarse asociados a la rizosfera y en las formaciones denominadas agregados. Hay grupos que también participan en las primeras fases de descomposición de la necromasa, mediante la fragmentación física que tiene lugar a expensas de diferentes grupos de la fauna del suelo (nemátodos, ácaros, colémbolos, anélidos, etc.).

La microflora del suelo, especialmente bacterias y hongos, es el grupo que más contribuye en número de organismos y en biomasa. Por otro lado hay que resaltar su diversidad metabólica, que posibilita su papel clave en los ciclos biogeoquímicos de los elementos, especialmente carbono y nitrógeno, pero también hierro, fósforo y azufre. En el caso del ciclo biogeoquímico del nitrógeno son las bacterias los únicos organismos que pueden fijar el nitrógeno atmosférico e introducirlo, en forma asimilable, en la cadena trófica. La fijación del N_2 puede realizarse en forma libre o en simbiosis y en condiciones aerobias o anaerobias.

Las categorías nutricionales de los microorganismos refuerzan la idea de la diversidad metabólica que poseen. Estas categorías son:

- 1.- Fotoautótrofos, que utilizan la luz como fuente de energía y el CO₂ como principal fuente de carbono.
- 2.- Fotoheterótrofos, utilizan la luz como fuente de energía y compuestos orgánicos como fuente principal de carbono.
- 3.- Quimioautótrofos, que utilizan una fuente de energía química y CO₂ como fuente principal de carbono.
- 4.- Quimioheterótrofos, usan substratos orgánicos complejos tanto como fuente de energía como de carbono.

De alguna forma todo lo comentado hasta este momento sobre los microorganismos del suelo nos transmite la idea de diversidad, no sólo estructural sino también funcional y además la heterogeneidad del suelo favorece la formación de nichos con características ambientales diferentes, que facilitan aún más la aparición de formas diversas adaptadas a esos microambientes. Se estima que sólo el 10% de los microorganismos del suelo es aislado y reconocido mediante las técnicas de cultivo, lo que acentúa la idea de “diversidad taxonómica” oculta.

I.2.- Acción antrópica y degradación del recurso edáfico.

La degradación del suelo implica una alteración en los ciclos biogeoquímicos en los ecosistemas terrestres, especialmente los de elementos determinantes para la vida, como son el carbono y el nitrógeno. La alteración de los procesos de mineralización de la materia orgánica en los suelos tiene consecuencias ambientales, en su papel de sumidero de dióxido de carbono; económicas, como pérdida de fertilidad en los suelos de uso agrícola, y consecuencias sociales, al perder un recurso difícilmente renovable.

Entre las actividades humanas de mayor impacto en los suelos están las relacionadas con la minería y la metalurgia. Algunos de los impactos ambientales ligados a estas actividades son:

- Destrucción de la capa superficial de suelo, ya que ésta se elimina para acceder a capas más profundas y extraer el mineral.
- Depósitos de escombros o estériles, cuya fuente es el material que se interpone en el camino de las vetas o la roca que no es rentable para obtener mineral. Generalmente se depositan gravitacionalmente en laderas, dando lugar a escombreras de tamaño variable. También se puede incluir en este apartado los depósitos de cenizas y/o de escorias de la metalurgia.
- Las explotaciones a cielo abierto dejan una brecha descubierta, sin vegetación y sin suelo.
- Lixiviados, generalmente ácidos y, en la minería metálica, cargados con metales pesados. Estas aguas ácidas se pueden generar al exponer la piritita al oxígeno atmosférico y producirse así la oxidación, lo que generará la acidez y ésta a su vez favorecerá la puesta en solución de metales pesados.
- Aumento de la contaminación atmosférica, p.ej. debida al polvo de las explotaciones a cielo abierto, pero también a las actividades metalúrgicas.
- Depósito de metales pesados en suelos y sedimentos, tras su movilización por actividades metalúrgicas o desde los depósitos de residuos de la minería o de la propia metalurgia.

El trabajo realizado para la presente memoria se ha localizado en zonas donde se desarrollan o se han desarrollado actividades mineras y metalúrgicas. En concreto en:

- El Distrito Minero de Almadén, con una casuística relacionada con la minería y metalurgia metálica, con explotaciones ancestrales en una comarca donde la explotación del mercurio ha convivido con actividades agro-silvo-pastorales.
- La Cuenca Carbonífera de El Bierzo. Explotaciones de carbón en un área de montaña templada-húmeda. A pesar de que el auge de la explotación de carbón en esta zona sólo va a cumplir un siglo, la herencia ambiental que nos deja es evidente en el paisaje y afecta a los suelos y aguas de la zona, condicionando otros usos del suelo.

I.3.- Variables indicadoras de la actividad del subsistema edáfico.

El estudio de una situación tan compleja, como es la que tiene lugar en los escenarios mineros, se presenta como una tarea cuando menos muy laboriosa. Generalmente una aproximación inicial a una zona de trabajo puede implicar una batería relativamente amplia de ensayos para conocer suficientemente el estado de este subsistema, ya que son muchas variables las que pueden verse afectadas por las alteraciones que introduce la actividad minera y/o metalúrgica.

Una aproximación razonable y sistemática puede realizarse a través de los denominados indicadores de calidad (o salud) del suelo. Estos términos están relacionados con una visión utilitarista del suelo. Así, una de las definiciones de calidad del suelo es la de su capacidad para realizar varias funciones y se representa como el conjunto de características físicas, químicas y biológicas que hacen posible desarrollar esas funciones. El término salud ha sido utilizado como sinónimo de calidad, aunque algunos (Doran y Safley 1997) ya han indicado que salud del suelo es “la capacidad continuada del suelo para funcionar como un sistema viviente dentro del ecosistema y en el marco de su uso para sustentar la productividad biológica, promover la calidad del aire y el agua y mantener la salud de las plantas, los animales y las personas”.

Justificándose como herramienta de apoyo para la gestión del uso del suelo se ha venido a proponer que se utilicen una serie de parámetros como indicadores de calidad de suelo. Estos parámetros indicadores deben reunir una serie de requisitos, como:

- 1.- Se correlacionan bien con procesos del ecosistema.
- 2.- Integran propiedades físicas, químicas y biológicas.
- 3.- Son relativamente fáciles de usar en condiciones de campo.
- 4.- Son sensibles a variaciones del clima y de la gestión del suelo.
- 5.- A ser posible que sean componentes de bases de datos edáficas.

Dentro de estos requisitos hay algunos claramente enfocados a la mejora del manejo del suelo en los agroecosistemas, pero hay otros que son muy interesantes para el estudio del suelo en otros ecosistemas, independientemente del uso que se haga o no del mismo. Estos requisitos de especial interés son el 1, el 2 y 4, que serían suficientes para tener

indicadores que, alejados del concepto utilitarista del suelo, podrían considerarse como parámetros ecofisiológicos para el estudio de suelos, no sólo agrícolas, sino también forestales, con o sin uso antrópico.

Algunos autores (Doran y Safley 1997) proponen un conjunto mínimo de datos de variables físicas, químicas y biológicas, para su uso como indicadores. Entre ellos:

- Materia orgánica (C y N total).
- C y N en biomasa microbiana.
- Respiración del suelo.

Relacionando esos indicadores se pueden obtener otros basados en la actividad heterótrofa y la masa microbiana. Los indicadores propuestos (Sparling 1997) son:

- Biomasa Microbiana.
- Cociente Microbiano (relación C_{mic}/C_{org}).
- Respiración Microbiana.
- Cociente Respiratorio (qCO_2 o relación respirometría basal/masa microbiana).

Como indicadores se puede asegurar que cumplen los tres requisitos que se mencionaron como los de mayor interés, también su empleo como parámetros ecofisiológicos y el uso de la información que ofrecen para entender situaciones ambientales, que si bien se pueden describir como regionales o locales, trascienden el ámbito edáfico. No obstante, la interpretación de los valores obtenidos en la determinación de los indicadores no está exenta de controversias y, lógicamente como cuando se aplica cualquier otro ensayo, de limitaciones. Un aspecto que se presenta como limitación (Sparling 1997) es la falta de valores de referencia. Ante ello, este autor propone varias alternativas, como el estudio de la evolución temporal de la variable en la propia parcela experimental, además del recurso ineludible del uso de valores previamente referenciados en la bibliografía. La opción priorizada en este trabajo ha sido analizar muestras de la misma zona de estudio de suelos con distinto uso o, de forma más general, con condicionantes ambientales diversos.

I.4.- Objetivos.

Teniendo en cuenta lo previamente expuesto, el objetivo general de este trabajo va dirigido a la identificación de los impactos causados por la minería y la metalurgia en el Distrito Minero de Almadén y en la Cuenca Carbonífera de El Bierzo, con la pretensión de tener un conocimiento más preciso de la situación y establecer fundamentos para el diseño de potenciales actividades de recuperación y la monitorización de las mismas.

Otro objetivo general es analizar hasta qué punto cada una de las variables microbianas relacionadas con la respirometría del suelo ofrece una información sintética sobre el nivel de perturbación del suelo, estableciendo así qué variables tienen capacidad diagnóstica y cuáles podrían además ser empleadas en la monitorización de procesos de recuperación.

Para conseguir dichos objetivos generales se han establecido los siguientes objetivos específicos:

- **Identificar las posibles causas de perturbación del sistema edáfico producidas por las actividades mineras y metalúrgicas.**
- **Determinar si la afectación de un terreno por prácticas mineras o metalúrgicas tiene efecto sobre la actividad microbiana.**
- **Establecer el grado de afectación de la actividad microbiana por otros usos del suelo.**
- **Discriminar hasta qué punto estas variables son relevantes en nuestro estudio para establecer si hay o no, y en qué grado, una alteración de la actividad microbiana en los suelos.**
- **Explicar cuáles son los factores subyacentes que condicionan los valores de las variables estudiadas.**

II.- ANTECEDENTES.

II.1.- Espacios degradados por las actividades mineras y /o metalúrgicas.

Los casos de Almadén y El Bierzo.

II.1.1.- Efectos de la minería y metalurgia metálica en la Comarca de Almadén.

La situación ambiental en la Comarca Minera de Almadén está marcada, en cada momento de su historia, por la explotación del mercurio, una explotación milenaria del mayor yacimiento mundial de este metal.

En la actualidad, cuando uno se aproxima a la Comarca Minera de Almadén aprecia un paisaje de bosque mediterráneo, tupido en las proximidades de las cimas de la Sierra de Cordoneros y que se ha aclarado, adehesado, en las partes medias y bajas de esa sierra. La Dehesa de Castilseras acoge diferentes usos del suelo y, de forma general, el paisaje no deja entrever la presencia de explotaciones mineras o metalúrgicas, pero las hay, generalmente en ruinas como las explotaciones minero-metalúrgicas del Quinto del Hierro. En las proximidades de Almadén se empiezan a apreciar instalaciones metalúrgicas, por ejemplo en las proximidades de El Entredicho, la única mina de mercurio que se explotó a cielo abierto y de la que ha quedado como evidencia una gran escombrera. También se puede observar el cerco de Almadenejos que alberga las ruinas de unos hornos metalúrgicos en la que se considera la zona más contaminada de la Comarca Minera. Ya en el casco urbano de Almadén se observa en la parte más alta, las instalaciones mineras y metalúrgicas, actualmente incluidas en el Parque Minero de Almadén. En las laderas que rodean estas instalaciones se aprecian trabajos de recuperación de escombreras.

Mercurio y medio ambiente en Almadén.

La presencia de mercurio en el ambiente de Almadén tiene una componente de origen no antrópico que es importante destacar. No obstante, la actividad minera y, en mayor medida, la metalúrgica, han propiciado la movilización del mercurio, desde las formas sulfuradas a formas más lábiles y, además, un aumento de la concentración de mercurio en determinados emplazamientos. La concentración de mercurio es alta en cualquier

circunstancia, lo que no implica que haya sido promovida exclusivamente por la actividad antrópica. Este último aspecto es importante si consideramos que ya desde el título V de la Ley 10/98 (BOE 1998) se establecía la actividad humana como causante de la contaminación del suelo para incluir ese espacio en el Inventario de Suelos Contaminados.

En todo caso, las huellas de contaminación en el paisaje de la Comarca Minera no parecen importantes, al menos a primera vista. Una situación que contribuye a esta apariencia es que sólo hubo una explotación a cielo abierto, El Entredicho, en la que la escombrera sí llega a apreciarse en el terreno. En otros casos de escombreras, como las de las proximidades de Las Cuevas, la revegetación de las mismas prácticamente las oculta.

El paisaje de las dehesas y la Sierra de Cordoneros contribuye a esa apreciación de ausencia de huellas de contaminación. No obstante, los análisis de mercurio realizados en medios naturales reflejan una presencia de mercurio elevada que, al ser debida en cierta medida a la movilización por minería y metalurgia, puede considerarse como una situación de contaminación. Los datos que cita Higuera (Higuera *et al.* 2006) sobre concentración de mercurio en Almadén se han recogido en la tabla 1.

Tabla 1.- Concentración de mercurio en matrices ambientales. Almadén.

Localización	Número de muestras	Rango de valores	Media	Desviación estándar
Hg en sedimentos ($\mu\text{g g}^{-1}$)				
Distrito de Almadén (todos los datos)	6061	0,5 -16000	19,5	357,6
Distrito de Almadén (datos filtrados)	6044	0,5 – 800	5,9	25,6
<i>Valor de referencia –en la zona- (Gray et al. 2004)</i>		0,02 – 0,078		
Hg en suelos ($\mu\text{g g}^{-1}$)				
Distrito de Almadén	67	6 – 8889	604,1	1798,5
<i>Referencia suelos no contaminados (Senesi et al. 1999)</i>		0,01-0,03		
Hg en agua de río ($\mu\text{g l}^{-1}$)				
Distrito de Almadén	115	6 -11200	3518,9	1532,4
<i>Valor de referencia –en la zona- (Gray et al. 2004)</i>		9,1 – 43		
Hg en aire (ng m^{-3})				
Distrito de Almadén (marzo)	15337	2 -9485	213,9	644,9
Distrito de Almadén (junio)	3760	2 - 6892	195,7	514,2
Mina de El Entredicho (marzo)	932	2 - 605	27,7	45,5
Mina de El Entredicho (junio)	984	2 -3111	291,3	567,6
<i>Referencia –área mediterránea- (Wanger et al. 2001)</i>		2-3		

Adicionalmente a los valores de referencia en agua, el estándar EPA del 92 para vida acuática se sitúa en 12 ng L^{-1} y el valor de referencia para agua potable USEPA (US EPA 2011) en 2000 ng L^{-1} .

Los datos anteriores evidencian concentraciones de mercurio, en todos los ambientes estudiados, muy por encima de los niveles de referencia. En suelos se podría pensar en una participación mayoritaria del mercurio natural, pero en el resto de ambientes las concentraciones altas sugieren la participación de la movilización antrópica del mercurio, pudiéndose pues catalogar la situación como de contaminación.

Sobre la concentración de mercurio en aire llama la atención el rango tan elevado de valores que se observa. Los valores más altos se suponen cuando estuvieran en funcionamiento los hornos metalúrgicos, pero a partir de 2003, cuando se suspende la actividad metalúrgica, la aportación de mercurio al aire debe producirse por la volatilización desde escombreras metalúrgicas o mineras y desde suelos, especialmente contaminados. En este sentido se ha descrito un proceso de emisión y transporte a distancia del mercurio (Lindberg *et al.* 1979), un mercurio que se deposita además en formas más disponibles para los seres vivos, metálico o en forma iónica.

El mercurio en los suelos de Almadén.

El contenido de mercurio en los suelos de Almadén es especialmente elevado, de hecho se propuso un valor de alrededor de 6 mg kg^{-1} como fondo natural de la zona (Higueras *et al.* 2006), quizá demasiado alto a tenor de otros resultados. Las formas sulfuradas de mercurio, como cinabrio y metacinabrio, son muy estables en condiciones ambientales y son mayoritarias en Almadén.

Estudios de especiación mediante XANEX (Bernaus Darbra 2006), en zonas de especial interés por su nivel de contaminación, indican que tanto en escombreras, como en suelos o calcinados, la forma mayoritaria es cinabrio, entre el 37% en suelos y el 62% en la escombrera de Almadén. Obtuvieron el 23% como metacinabrio en el paraje denominado Huerta del Rey, muy próximo a la escombrera de Almadén. En el cerco de Almadenejos el contenido de metacinabrio es del 34% del Hg total. En los calcinados de Almadenejos también encontraron un porcentaje alto, 18%, de HgO y, dentro de formas más solubles que las mencionadas, se describen calomelanos (Hg_2Cl_2) en suelo (40%), y en la escombreras de Almadén (37%). En Almadenejos también citan como fracción soluble la schuetita, ($\text{Hg}_3\text{O}_2\text{SO}_4$), cerca del 25% en suelos y por encima del 32% en calcinados. Se ha sugerido que esta fracción proceda de lixiviación de acúmulos de mineral (Higueras *et al.* 2003).

En cuanto a formas orgánicas de mercurio, se han estudiado en aguas, sedimentos y calcinados (Berzas Nevado *et al.* 2003; Gray *et al.* 2004). En cuanto a suelos, trabajos realizados mediante desorción térmica (Higueras *et al.* 2003), asignan a mercurio unido a formas orgánicas la fracción que se libera a $200 - 220 \text{ }^\circ\text{C}$, y sugieren que su formación es debida a la transformación en la atmósfera de $\text{Hg}^0_{(\text{g})}$ a Hg^{2+} , en un proceso

mediado por ozono y en el que la forma Hg^{2+} depositada en el suelo podría acabar formando el organomercurial. Esta unión se formaría con preferencia a la inclusión de Hg^{2+} en esmectitas, muy escasas, y las formas principales que describen en las parcelas de estudio por medio de desorción son las de organomercuriales y la fracción correspondiente al cinabrio. Quizá la detección de dos tipos de formas mercuriales parezca un poco restrictivo, habida cuenta de que otros trabajos de extracción secuencial en la misma parcela experimental describen una riqueza de formas notablemente mayor (Sánchez *et al.* 2005).

Ensayos de extracción secuencial aplicados a un perfil de suelo (Sánchez *et al.* 2005), mostraron que la mayor parte del mercurio en cualquiera de los horizontes que analizaron estaba en la fracción que se solubiliza en clorhídrico 6M, entre 14,9 y 51,0 $\mu\text{g g}^{-1}$, lo que atribuían a la unión del mercurio en oxi-hidróxidos de hierro, seguido de la fracción residual, correspondiente a mercurio en forma de sulfuro, con valores entre 2,9 y 8,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ y del mercurio oxidable, que está asociado a materia orgánica, entre 1,3 y 2,3 $\mu\text{g g}^{-1}$, mientras que en la fracción intercambiable obtuvieron valores de 0,13 a 0,35 $\mu\text{g g}^{-1}$. y en las fracciones “soluble en agua” y “asociado a carbonatos” siempre obtuvieron valores por debajo del límite de detección. Por otro lado, ensayan en 5 horizontes desde Ap hasta Bt2 y para las fracciones: soluble en clorhídrico 6M, oxidable y residuo. La mayor concentración se da en el horizonte Bt1 (35-50 cm), en la zona de contacto entre los horizontes con más contenido en materia orgánica y la zona que se impermeabiliza por la presencia de arcillas.

Otros estudios relacionados con formas solubles e intercambiables de mercurio en distintos ambientes de la zona de Almadén también reflejan concentraciones altas de mercurio total con muy bajo contenido en formas solubles e intercambiables (Millán *et al.* 2006). Los valores hallados en ese estudio se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Contenido de Hg (total, soluble e intercambiable) en muestras de suelo.

Parcela	Descripción del emplazamiento	Hg Total (mg kg ⁻¹)	Hg Soluble (mg kg ⁻¹)	Hg Intercambiable (mg kg ⁻¹)
P1	Orilla del Río Valdezogues	146 ± 13	0,02 ± 0,03	0,36 ± 0,47
P2	Fuente del Jardinillo. Bosque mediterráneo	5.03 ± 0,43	0,04 ± 0,05	0,29 ± 0,07
P3	Dehesa Castilseras Pastos	12.78 ± 1.23	0,03 ± 0,01	0,27 ± 0,26
P4	Zona experimental Dehesa/labor (parcela FIT)	21.34 ± 1.09	0,09 ± 0,1	0,28 ± 0,30
P5	Antigua metalurgia de Almadenejos	550 ± 58	1.04 ± 0,62	6.74 ± 4.74
P6	Escombrera de Almadén	1.710 ± 43	0,34 ± 0,05	8.35 ± 4.61
P7	Ladera de Cordoneros, Dehesa de Castilseras, Dehesa/labor	5.5 ± 0,5	0,05 ± 0,09	0,18 ± 0,14
P8	Talud superior “El Entredicho” ²	69.8 ± 6.8	0,06 ± 0,09	0,26 ± 0,11
P9	Talud inferior “El Entredicho”	122 ± 7	< LD ¹	1.20 ± 1.32
P10	Escombrera sobre “Las Cuevas”	118 ± 12	0,02 ± 0,04	0,20 ± 0,36

¹Limite de detección = 0,4 µg kg⁻¹. ²Antes de inundar la corta

La concentración de mercurio es elevada en todas las zonas de muestreo, claramente superior a los niveles de referencia, y son especialmente elevadas las concentraciones en aquellas zonas donde han acumulado material proveniente de la metalurgia, los calcinados, como en la, actualmente restaurada, escombrera de Almadén o en la parcela correspondiente a la antigua metalurgia de Almadenejos, aún sin restaurar. En las zonas relacionadas con la minería del mercurio, taludes de El Entredicho y Las Cuevas, las concentraciones de mercurio eran menores. Dentro de las muestras en espacios aparentemente no afectados por la actividad antrópica es destacable el valor de concentración en suelo/sedimento de las orillas del río Valdezogues, explicable al hallarse aguas debajo de las explotaciones de Almadén y muy próxima a las zonas de muestreo donde se han registrado valores muy altos de mercurio en sedimentos (Gray *et al.* 2004).

La vegetación local y el mercurio.

Hay que considerar en primer lugar que no se conoce ninguna función biológica del mercurio y además hay que tener en cuenta la toxicidad de ciertas formas de mercurio. Por ello su incorporación a los seres vivos no puede ser considerada fruto de una actividad fisiológica normal, sino consecuencia de un accidente. En medio terrestre la relación entre el mercurio en los suelos y la vegetación puede llegar a implicar una limitación en el uso del suelo.

En Almadén se han descrito elevadas concentraciones de mercurio en vegetales consumidos por la población local, como la esparraguera, con valores en raíz de hasta 56 mg g^{-1} y en tallos de hasta 7 mg g^{-1} (Higueras *et al.* 2004). No obstante un producto típico de la zona como la berenjena (*Solanum melongena*), si bien concentra más mercurio en la raíz, el consumo de la parte comestible no implica riesgo para la salud humana (Sierra *et al.* 2008b). En cuanto a la cebada (*Hordeum vulgare*), tampoco el uso humano conlleva riesgo para la salud humana, pero su uso forrajero puede requerir un cierto control (Sierra *et al.* 2011). También, dentro de los cultivos forrajeros *Vicia sativa* presenta niveles de mercurio en la parte comestible adecuados a la legislación, pero se recomienda su comercialización con mezcla de otras plantas forrajeras para reducir la concentración final de mercurio en el producto (Sierra *et al.* 2008a).

El mercurio, para incorporarse a la planta, debe estar biodisponible y próximo a la raíz. Son condiciones necesarias, pero no únicas, para la incorporación de mercurio a la planta. Posteriormente, la raíz actuará de barrera impidiendo el paso del mercurio o bien, como ocurre con las plantas acumuladoras, permitirá su incorporación. Una vez incorporado el mercurio podrá trasladarse a la parte aérea de la planta.

Otra posible vía de incorporación sería a través de los estomas, tras volatilización de mercurio. Esta vía parece minoritaria en muestras de Almadén, según comprobaron en un estudio de la Universidad Autónoma de Madrid (Lucena *et al.* 1992), en el que analizaron esta posibilidad en un trabajo en el que observaron acumulación de mercurio en gramíneas y leguminosas de zonas con elevada concentración de mercurio, próximas a suelos antropizados. No obstante otros autores no desdeñan esta vía de incorporación, bien proveniente de la volatilización del mercurio en suelos (Millán *et al.* 2006), o

cuando hubo actividad metalúrgica también por interceptación foliar (Lindberg *et al.* 1979).

Se ha descrito (Millán *et al.* 2006), que en suelos con mayor concentración de mercurio, tanto total como disponible, suelos que corresponden a emplazamientos con influencia minera o metalúrgica (escombreras de Almadén y el Entredicho y Hornos de Almadenejos) es donde se encuentran las plantas que acumulan más mercurio en parte aérea. Como tendencia general describieron que a mayor concentración de mercurio disponible en suelo, mayor concentración en planta. Adicionalmente describen como hecho general que en las parcelas más antropizadas, la cantidad de mercurio disponible es mayor en la zona radicular que en el suelo superficial.

Transformaciones microbianas del mercurio en Almadén.

Hasta principios de 2012 sólo existía un trabajo sobre actividad microbiológica relacionada con el mercurio en Almadén (Gray *et al.* 2004). En este trabajo, entre otros ensayos, analizan la capacidad de metilación y demetilación, en muestras de agua y sedimentos de río y en muestras de calcinados de Almadén y Almadenejos, y también en una muestra de suelo. En cuanto a metilación indican que Almadenejos es un punto caliente, con tasas mucho mayores que en Almadén. De hecho, en Almadenejos obtienen valores de metilmercurio 300 veces mayores que en Almadén. En las dos muestras de Almadenejos analiza también mercurio iónico, Hg^{2+} , obteniendo valores de 2 y 11 $mg\ g^{-1}$ de suelo, por lo que sugiere la presencia de altas concentraciones de mercurio en forma disponible para los microorganismos. Esos valores de Hg^{2+} son 100 veces mayores que los que obtienen en Almadén. Los valores de metilación en Almadenejos les parecen aún más sorprendentes, habida cuenta de las condiciones óxicas de la zona muestreada, y sugieren que la metilación es una actividad durmiente que se activa cuando el suelo se satura con agua.

En cuanto a los sedimentos, achacaron las concentraciones altas de mercurio en las proximidades de la estación de Chillón, Garganta del Azogado, a la lixiviación procedente de los depósitos de calcinados en Almadén, 7 km aguas arriba. En esta zona del río los sedimentos también contenían concentraciones más altas de metilmercurio y mercurio metálico que aguas abajo. Sobre metilación indicaron que al ser claramente anóxico el ambiente de los sedimentos, esta debería estar potenciada, aunque también se

presenta muy alta la actividad desmetiladora, que puede transcurrir en condiciones óxicas o anóxicas. No obstante indicaron que sólo uno de los tres sedimentos del Azogado ofrecía valores medibles de transformación de mercurio y sólo uno presentaba valores elevados de la constante de desmetilación y una concentración elevada de metilmercurio.

En aguas describieron valores altos de mercurio en el embalse de El Entredicho y en la zona de la Garganta del Azogado. Aguas debajo de este punto la concentración de mercurio va disminuyendo. Parte del mercurio en agua puede venir de los sedimentos y parte de la lixiviación de los depósitos de calcinados en Almadén (que se retiraron y la escombrera de la mina ha sido restaurada). Aunque no encontraron evidencias en campo de la aportación de lixivios, sí que analizaron un elevado potencial de lixiviación de mercurio en laboratorio.

En 2012 se ha publicado otro artículo (Ruiz-Diez *et al.* 2012) centrado en el aislamiento de bacterias asociadas a nódulos de *Rhizobium* en suelos de Almadén, caracterizando su tolerancia al mercurio y eligiendo tres cepas de esos aislamientos con fines de restauración.

Repercusión ambiental de la minería en Almadén.

Los efectos de la actividad minera en Almadén son variados y de diversa importancia según el momento al que hagamos referencia; es de suponer que las primeras explotaciones prácticamente no tendrían gran impacto, pero la excavación de galerías y la necesidad de entibar llevaron al empleo de madera, también utilizada como combustible en la metalurgia. Lógicamente, era obtenida, en primer lugar de las proximidades, aunque con el tiempo la madera fue una materia prima considerada como escasa e incluso limitante de las actividades en Almadén (Matilla Tascón, 1987; Ruiz-Diez *et al.* 2012). Desde el punto de vista ambiental, esto nos puede conducir a pensar en una sobreexplotación del recurso en Almadén y su entorno y la consecuente deforestación. La madera era utilizada tanto en el entibado, como en la fabricación de diversos tipos de andamios, escaleras e incluso maquinaria de gran tamaño, como los malacates utilizados en los sistemas de extracción de mineral o de agua. Sobre el uso de madera en las minas podemos tener una referencia cuando se citan los incendios como una de las causas más frecuentes de parada de la actividad minera.

En el caso de la minería del mercurio la mayor parte de las minas son de interior, menos El Entredicho, con lo que los problemas causados por los cielos abiertos son menores que en otras zonas mineras. En el caso de El Entredicho el hueco tenía una profundidad de hasta 80 m y el escombros extraído se depositó en escombreras. Para hacer el hueco tuvieron que desviar el cauce del río Valdeazogues por un lateral de la presa. Cuando finalizó la explotación recondujeron el río por su antiguo cauce y, al estar represado, formó un embalse alrededor del cual se ubican las escombreras, siendo la zona de mayor efecto paisajístico en la comarca. La inundación del hueco, sin cubrir las zonas expuestas de la corta, fue concebida como obra de restauración.

A lo largo de la historia de la actividad minera se abrieron un buen número de explotaciones, muchas conocidas y bajo control y otras, seguramente sin impacto reseñable, abandonadas quizá desde hace cientos de años que, en algunos casos no han dejado estructuras apreciables a simple vista. Otras se pueden apreciar, aunque en algunos casos estas instalaciones abandonadas pueden estar más cerca de formar parte del rico patrimonio arqueológico de la comarca, que de ser parte de un problema ambiental.

Impacto de la actividad metalúrgica.

Al igual que con la actividad minera, la evolución de las técnicas metalúrgicas también ha marcado el ritmo del impacto de la actividad en el medio. La relativamente baja temperatura de descomposición del cinabrio facilita la extracción del mercurio del mineral y el método de tostación fue empleado desde el principio en las labores metalúrgicas. La recogida del mercurio, ya en forma metálica, se realizaba tras su condensación. Los árabes cocían el mineral en recipientes de barro cerrados, llamados xabecas, que dejaban atemperar tras la tostación, rompiendo el recipiente y recogiendo el mercurio metálico. Si la temperatura no era lo suficientemente baja, el mercurio metálico lo perderían por volatilización y si el proceso no era lo suficientemente eficaz quedaría mercurio en el residuo (calcinados). En todo caso podría dar origen a una emisión de mercurio a la atmósfera y su posterior depósito a distancia sobre el suelo o la vegetación y además en forma iónica, mucho más reactiva y asimilable que el cinabrio.

Aunque las técnicas metalúrgicas avanzaron y la metalurgia del mercurio se aplicó a gran escala, especialmente tras la patente del método de beneficio de patio (Hernández Sobrino, 1995) y la demanda de mercurio para las explotaciones de oro y plata en América, básicamente las formas de contaminación a partir de actividades metalúrgicas son las descritas para los hornos de xabecas: la emisión a la atmósfera y el acúmulo de mercurio en los calcinados.

Al desarrollarse la metalurgia se acabó trabajando con hornos muy eficaces, con poca pérdida a la atmósfera y elevado rendimiento de extracción de mineral. No obstante, el emplazamiento actualmente más contaminado en Almadén es el de la antigua metalurgia de Almadenejos donde funcionó un horno de aludeles con un rendimiento muy pobre.

Los depósitos de calcinados, en condiciones más o menos controladas, también representan un problema de emisión de mercurio al medio.

II.1.2.- La minería del carbón en la Comarca de El Bierzo.

De forma general se puede hablar de minería milenaria en el Bierzo, como atestiguan las antiguas explotaciones auríferas de Las Médulas. Además han existido explotaciones de hierro hasta épocas muy recientes, como las de los Cotos Wagner y Vivaldi y las noveladas¹ explotaciones de wolframio. Pero en este trabajo nos referiremos como zona de estudio a la situada en la Cuenca Carbonífera y a los problemas ambientales asociados con la minería del carbón.

Antecedentes históricos de los problemas ambientales asociados a la minería del carbón en la cuenca carbonífera de El Bierzo.

Aunque la riqueza carbonífera en esta zona era conocida desde la segunda mitad del siglo XVIII, la industria berciana del carbón no se inicia hasta la última década del siglo XIX cuando, con vistas a alimentar la siderurgia, se compran minas y concesiones por parte de empresarios vizcaínos, creando las empresas: Hulleras de Sabero y Anexas en 1892 y Hullera Vasco Leonesa en 1893 (Alberruche del Campo 2010).

¹ En referencia a la novela de Raul Guerra Garrido “El año del wolfram”, finalista del Premio Planeta en 1984.

A raíz de la Primera Guerra Mundial se produce un auge de la explotación de carbón, especialmente en las cuencas de El Bierzo y Villablino que no tenían acceso directo a los ferrocarriles construidos hasta ese momento. Posteriormente, a partir de 1922 el consumo de antracita aumenta para dar servicio a las calefacciones domésticas.

Durante la II República la producción de antracita se mantuvo, y tras la Guerra Civil la industria de carbón experimenta un periodo de expansión, ya que el carbón se convierte en la principal fuente energética de un país cerrado al exterior. La apertura de fronteras, con el Plan de Estabilización de 1959, y el cambio de modelo energético a otro basado en el petróleo generan una nueva crisis, hasta el aumento de precios del petróleo en el año 1973, que supone un nuevo auge en la explotación del carbón.

Tras la entrada en la Unión Europea el carbón español pierde competitividad frente al carbón de otros países, lo que conlleva la fusión de una serie de empresas de El Bierzo, ya forzando la desaparición de los minifundios (denominados “chamizos”) y acabando la explotación berciana centrada en dos empresas, por un lado Unión Minera del Norte (UMINSA), grupo de Victorino Alonso y Alto Bierzo S.A., del grupo Vitoria Hermanos.

La legislación ambiental se puede considerar nula, hasta la Ley de Minas (Cantó Portillo y García Álvarez 2010), Ley 22/1973 (BOE 1973) En esa norma ya se establecen unos mínimos de control ambiental sobre las explotaciones, que, a la vista de la situación actual, son infructuosos, a pesar de que la Ley 6/1977 de 4 de enero de Fomento de la Minería (BOE 1977) ofrece la posibilidad de obtener créditos y subvenciones para trabajos de medio ambiente impuestos por la Administración.

El Reglamento que desarrolla la Ley de Minas, RD 2857/1978 (BOE 1978), aparece en un momento de transición, donde se prevé que las normativas ambientales sean aplicadas por Comunidades Autónomas y que además se tengan que incorporar normativas ambientales de la Unión Europea. La aplicación pues de este reglamento, al menos en materia ambiental, queda de alguna forma ambigua y con muy pocas posibilidades de éxito en su puesta a punto. Es realmente el RD 2994/1982 de 15 de octubre sobre restauración de espacios naturales afectados por actividades extractivas

(BOE 1982) el que supone un punto de inflexión en la normativa ambiental, con sus ampliaciones y desarrollos, RD 1116/1984 de 9 de mayo (BOE 1984a) sobre Restauración del Espacio Natural Afectado por las Explotaciones de Carbón a cielo abierto y la Orden de 13 junio de 1984 (BOE 1984b) sobre normas de elaboración de los planes de explotación y restauración del espacio natural afectado por las explotaciones de carbón a cielo abierto. Estas dos últimas normas así como las anteriores, hacen referencia y unifican la gestión de residuos mineros y la rehabilitación de espacios según las directivas europeas mediante el RD 975/2009 de 12 de junio, sobre gestión de los residuos de las industrias extractivas y de protección y rehabilitación del espacio afectado por actividades mineras (BOE 2009).

La normativa ambiental empezó a ser efectiva coincidiendo con el declive en la explotación de carbón y cuando empiezan a desaparecer los minifundios en la zona de El Bierzo, con lo que las instalaciones abandonadas anteriores a 1982 pasan a ser un legado ambiental denominado “huérfano” que esperamos sea integrado en el inventario que propone el RD 975/2009 que, en lo que respecta a la cuenca carbonífera puede estar prácticamente concluido con una recopilación de los trabajos realizados hasta el momento por el IGME y el CIEMAT.

Problemas ambientales derivados de la minería del carbón. El caso de El Bierzo.

Los problemas ambientales asociados a la minería del carbón se pueden centrar en:

- a) Retirada de suelos para las explotaciones a cielo abierto.
- b) Depósito sobre suelos naturales de escombros, tanto provenientes de las explotaciones de interior como de las explotaciones a cielo abierto.
- c) Drenajes ácidos de minas, que puede implicar una mayor lixiviación de metales pesados y la consiguiente contaminación del medio.
- d) Deterioro del paisaje, tanto por los huecos mineros, las escombreras, como por la potencial coloración de los ríos y por el abandono de infraestructuras asociadas con la producción de carbón: cargaderos, lavaderos.
- e) Arrastre a los ríos de material carbonoso procedente de lavaderos de carbón, apilamientos de carbón comercializable o de escombreras.
- f) Emisiones a la atmósfera, no sólo de polvo y partículas propios de la actividad minera sino por la emisión de gases asociados a la autocombustión del carbón.

El deterioro del paisaje en El Bierzo debido a la minería del carbón es evidente, la entrada al Bierzo a través del Puerto de Manzanal es reveladora de la cantidad de escombreras de carbón y estructuras mineras abandonadas.

Afectación de las aguas.

Sobre la afectación de las aguas superficiales los estudios conducidos desde el IGME (Lacal Guzmán y Herrero Barrero 2011) señalan la existencia de “aguas fuertemente contaminadas”, clase V de contaminación del índice biológico IBMWP, en los arroyos de la Silva y Rodrigatos. En el primero de los casos la afectación fue originada por las actuaciones en la construcción de la autovía A-6 que expusieron grandes volúmenes de pizarras de Luarca en depósitos realizados sobre la cabecera del arroyo de la Silva, con valores de pH algo inferiores a 3 (Rodríguez Gómez 2010), constituyendo un drenaje ácido de rocas. Esta situación continuaba a lo largo del arroyo, que recibe contribuciones de varias escombreras de carbón, hasta su desembocadura en el río Tremor. Las obras de restauración realizadas durante 2011 han modificado esta situación (Lacal Guzmán, comunicación personal).

Estudios realizados en 1996 (Vadillo Fernández *et al.* 1996) señalan ausencia total de macroinvertebrados en el Rodrigatos que entendieron era debida a la actividad minera en el tramo superior de ese río durante un periodo de más de 50 años. Posteriormente se fueron realizando una serie de actuaciones: rehabilitación de riberas, retranqueo de escombreras, construcción de balsas y la construcción de la pista forestal, utilizando como zahorra piedra caliza, que proporcionan alcalinidad y que han modificado claramente las características de sus aguas, como el pH, que ha pasado a estar próximo a la neutralidad (Buil *et al.* 2007). Este arroyo también vierte en el Tremor, aguas arriba de la desembocadura del arroyo de la Silva.

El río Tremor recibe aguas del Rodrigatos y las aportación de escombreras de la zona de Tremor antes de la recepción del arroyo de la Silva, desde este punto hasta su desembocadura en el Boeza, recibe la calificación de clase III, aguas contaminadas o en situación dudosa. A esta situación también contribuyen las aguas de lavado de un elevado número de escombreras, el aporte de bocaminas y las aguas urbanas de Torre del Bierzo.

Escombreras y estructuras abandonadas.

El Plan Director para la Restauración Edafopaisajística y Recuperación Ambiental de los espacios degradados por la minería del carbón en la Comarca de El Bierzo, ha identificado 571 escombreras en la zona de estudio (Mejuto Mendieta *et al.* 2010b) ocupando un total de 5031 ha, que, en su proyección tridimensional, alcanzarían las 5.251 ha lo que representan el 5,6% de la superficie de los 9 términos municipales que se incluyen en el estudio. Los detalles de la distribución de estas escombreras incluidas en ese estudio se recogen en la tabla 3.

Actualmente, y por criterios económicos, se fomenta la explotación de carbón mediante cielos abiertos, lo que hace que la superficie afectada sea cada vez mayor. Así en el estudio citado, trabajos previos, mediante fotografía aérea del año 2004, revelaban una superficie afectada de 4.458 ha, lo que implica un aumento de un 12% en cuatro años.

En cuanto a estudios previos al Plan Director, el Inventario de estructuras mineras realizado por el IGME (Vadillo Fernández *et al.* 2006), incluía como focos de contaminación en la Cuenca Carbonífera de El Bierzo hasta 168 estructuras de las cuales 116 generadoras de un impacto ambiental severo. En ese trabajo se identificaba el área de Tremor de Arriba como una de las más afectadas por las actividades mineras; es precisamente en esta zona donde se ha realizado la parte experimental de este trabajo correspondiente a El Bierzo.

Otro aspecto destacable en la cuenca carbonífera de El Bierzo, y con fuertes repercusiones ambientales, es la de algunas escombreras que han entrado en autocombustión. La autocombustión del carbón se produce como consecuencia de la oxidación del carbón en las escombreras. Es una reacción exotérmica cuya velocidad de reacción es fuertemente dependiente de la temperatura. La autocombustión se puede producir con más frecuencia en escombreras con cantidades significativas de carbón y poca compactación. Este proceso incontrolado conduce a la liberación de gases de efecto invernadero, lluvia ácida y movilización de elementos traza.

Tabla 3.- Distribución de escombreras por municipios.

Municipio	Superficie del municipio (ha)	Nº total de escombreras	Superficie ocupada por escombreras (ha)	Superficie (%) sobre el total del municipio
Bembibre	6.344	35	239	3,8
Berlanga del Bierzo	2.689	14	101	3,6
Fabero	5.448	37	1.447	26,6
Folgoso de la Ribera	6.928	41	213	3,1
Igüeña	20.618	184	820	4,0
Noceda	7.216	25	278	3,8
Páramo del Sil	19.022	24	679	3,6
Toreno	10.355	54	400	3,9
Torre del Bierzo	11.934	157	854	7,2
TOTAL	90.654	571	5.031	5,6

Elementos traza en suelo.

Los elementos traza liberados por las actividades mineras, vía drenajes ácidos de minas o la emisión por combustión (por ejemplo en escombreras en autocombustión), pueden acumularse en suelos y sedimentos. En la comarca de El Bierzo se han analizado estos elementos en sedimentos y agua de río (Buil *et al.* 2007) (Lacal Guzmán y Herrero Barrero 2010), aunque sobre la concentración de estos elementos en suelos, no había datos hasta fechas muy recientes (Mejuto Mendieta *et al.* 2010a), del primer autor (Mejuto Mendieta 2011) se extrae la tabla 4.

Tabla 4.- Elementos traza en suelos. El Bierzo.

<i>Punto de muestreo</i>	<i>Elementos en mg kg⁻¹</i>									
	<i>Mn</i>	<i>Co</i>	<i>Zn</i>	<i>Ni</i>	<i>Cu</i>	<i>Cr</i>	<i>Pb</i>	<i>As</i>	<i>Cd</i>	<i>Hg</i>
<i>PAR (B4)</i>	5735	455	375	359	66,3	29,9	23,0	8,0	1,04	0,18
<i>PAR (B5)</i>	335	16,5	275	34,7	29,3	32,6	28,4	16,7	0,36	0,37
<i>PAR (B7)</i>	457	11,4	266	23,2	17,8	26,8	18,4	9,2	0,26	0,25
<i>PAR (B8)</i>	1074	19,7	300	43,0	23,0	50,0	30,4	15,3	0,36	0,25
<i>ES (B3)</i>	392	15,6	250	26,2	36,6	31,7	23,6	7,8	0,17	0,21
<i>ES (B6)</i>	229	9,5	222	28,5	37,4	31,1	39,3	23,9	0,20	0,61
<i>ES (B9)</i>	408	14,5	210	26,8	20,4	32,5	20,3	8,3	0,26	0,11
<i>ES (B10)</i>	434	11,3	199	20,9	16,0	31,0	15,6	10,8	0,19	0,10
<i>ES (B11)</i>	240	5,9	188	15,6	9,9	24,1	14,9	10,8	0,12	0,15
CM	690	15	1170	405	80	90	75	24	3	5

Los puntos de muestreo coinciden con los que se han incluido en este trabajo, En la tabla usamos la denominación que hemos utilizado nosotros, aunque la notación original utilizada por el autor es la que figura entre paréntesis. Se mantienen los valores genéricos de referencia para suelos de la Comunidad de Madrid (BOCM 2006) que el autor usó como referencia externa.

Los valores de Mn y Co superan, en algunos puntos de muestreo, los valores genéricos de referencia, Mejuto propuso (Mejuto Mendieta 2011) como referencia local, los valores correspondientes a PAR (B8) y con respecto a estos valores sí que se aprecian concentraciones más elevadas de metales en PAR(B4).

II.2.- Actividad microbiológica y su variabilidad en espacios degradados.

La actividad microbiológica del suelo es un paso clave en los ciclos biogeoquímicos de macro y microelementos esenciales. El proceso de mineralización de la materia orgánica comienza con su fragmentación a expensas de la micro y mesofauna del suelo, que hace más accesible la actuación de la microflora edáfica, responsable última de la oxidación de los restos orgánicos y, por tanto, del cierre del ciclo de los materiales que tiene lugar en el suelo. En el flujo y redistribución de energía química también se movilizan y distribuyen otros nutrientes en el suelo, como son las formas de nitrógeno, fósforo y azufre. La actividad heterótrofa en condiciones aerobias es la que rinde una mayor energía para los microorganismos, siendo la actividad microbiana mayoritaria en el suelo.

En condiciones aerobias el carbono de la materia orgánica del suelo es oxidado a dióxido de carbono con el consecuente consumo de oxígeno. Podemos entender la respirometría en un suelo como la medida del dióxido de carbono producido o la del oxígeno consumido o mejor aún la medida simultánea de ambos gases.

La determinación respirométrica ofrece información de en qué medida y a qué velocidad se está produciendo la actividad mineralizadora de la materia orgánica del suelo. La respirometría del suelo se propone como índice de calidad de suelo ya que es una variable sintética del estado de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Puede ser un índice del funcionamiento del ecosistema y es sensible a variaciones del clima y del manejo del suelo.

Realmente la actividad respiratoria del suelo es sensible a variaciones ambientales muy diversas, no sólo del clima y de la gestión del suelo. Sobre las medidas respirométricas en campo, el propio J.P. Anderson (Anderson 1982) indica que la medida está sometida a muchos factores siendo pues muy variable y por ello propone la medida en condiciones de laboratorio, más controladas, tal como el mismo propuso para la estimación de la masa microbiana por respirometría inducida por substrato (Anderson y Domsch 1978) o como ese mismo grupo propuso para la respirometría basal (Anderson y Domsch 1986) en (Anderson y Domsch 1993).

En este punto se puede indicar que hay ciertas variables que se proponen como índices de calidad de suelo y que, sin menoscabar la validez que puedan tener otras, se han considerado de forma prioritaria en el desarrollo de este trabajo. Cabe destacar las siguientes:

- Materia orgánica del suelo.
- Masa microbiana del suelo (la fracción viva de la materia orgánica del suelo).
- Respirimetría basal (consecuencia de la actividad aerobia heterótrofa en el suelo).

También se han considerado las relaciones entre las variables anteriores, tales como:

- Relación C_{mic}/C_{org} .
- Cociente metabólico (qCO_2).

A todas ellas hay que añadir la tasa máxima de respiración.

De una u otra manera todas las variables citadas pueden ser indicadoras de algún tipo de perturbación debida al manejo o uso del suelo, en concreto alteraciones producidas por actividades mineras y/o metalúrgicas como puede ser la contaminación del suelo por metales pesados (p.ej. depositados vía atmosférica tras procesos en hornos metalúrgicos, debido a metales lavados de depósitos de mineral o de depósitos de estériles) y, por supuesto a la retirada del suelo en los cielos abiertos o al enterramiento del suelo natural por los depósitos de estériles.

Factores no antrópicos que condicionan el metabolismo edáfico.

Hay otros factores de origen no antrópico que pueden producir cambios en los procesos que tienen lugar en el suelo como pueden ser:

- Variabilidad estacional.
- Factores climáticos locales (ciclos desecación-humectación) que pueden ser relevantes en los climas mediterráneos.
- Variaciones en pH.
- Estadío de desarrollo del suelo. Cronosecuencias.

Un aspecto que también habría que considerar es el tiempo de respuesta de la variable en estudio frente a una variación ambiental. Un cambio ambiental que se refleje en la respirometría basal sería observable de manera prácticamente inmediata, mientras que los cambios apreciables en masa microbiana y materia orgánica del suelo se evidenciarían a tiempos más largos, seguramente relacionados con las tasas de recambio, semanas a meses para masa microbiana y meses a años para materia orgánica del suelo.

Variabilidad estacional.

En ciertos climas, como los mediterráneos, la estacionalidad implica variaciones ambientales importantes, en lo que se refiere a la actividad microbiana de los suelos (García Álvarez 1989). Esta influencia puede venir dada por situaciones meteorológicas, como lluvias tras periodos de sequía, provocando un aumento de nutrientes disponibles en el suelo y por consiguiente condiciones adecuadas para el aumento de la masa microbiana y de la respirometría basal, pero también puede estar marcada por la actividad de la vegetación; si es una estación donde se da un mayor crecimiento de la vegetación es comprensible una competencia por ciertos nutrientes entre las raíces vegetales y los microorganismos del suelo y al contrario, un aporte de nutrientes por parte de la vegetación al suelo en la estación donde ocurra la senescencia.

En bosques ácidos de la Península Ibérica (Díaz Raviña *et al.* 1995) se han obtenido valores más altos de carbono microbiano en primavera que en el resto de estaciones, mientras que en flujo de nutrientes la tendencia general era valores similares en otoño y primavera pero mucho mayores que en invierno y verano. En bosques también se muestra tendencia estacional con valores respirométricos mayores en otoño que en el resto de estaciones y mayor densidad de población microbiana en muestras tomadas en primavera y otoño (Díaz-Raviña *et al.* 1993). Recientemente se recordaba la necesidad de tener en cuenta el factor estacional, realizando los muestreos en la misma estación (Anderson y Domsch 2010), especialmente cuando se trata de comparar valores de parámetros eco-fisiológicos. Estos autores indicaron que la comparación de valores de cociente metabólico, de suelos muestreados en diferentes estaciones, puede ser una de las fuentes de controversia al analizar ese parámetro.

Factores climáticos locales.

Condiciones meteorológicas, en cuanto a precipitación y temperatura, pueden afectar las magnitudes encontradas en las variables de actividad microbiológica. Por un lado, en laboratorio, la temperatura, en la respirometría inducida por sustrato, es un parámetro crítico, aumentando la estimación del carbono microbiano con la temperatura (Anderson y Domsch 1978). También en campo ha sido descrito como un parámetro importante, al menos en suelos semiáridos donde la humedad no limitaba la actividad microbiológica (Conant *et al.* 2004). Por otro lado los ciclos desecación-humectación también han sido estudiados encontrando siempre que la rehumectación de una muestra que ha sufrido un periodo de desecación, provoca un aumento en la respiración y otras variables relacionadas con la actividad microbiana tanto en laboratorio (Orchard y Cook 1983, Kieft *et al.* 1987) como en campo (Wardle y Parkinson 1990b), donde observaron un aumento en la tasa de respiración en muestreos realizados entre 3 y 5 días tras la precipitación.

Influencia del pH.

El valor de pH de un suelo depende en gran medida de las características de la roca madre sobre la que se ha formado, siendo una variable a la que termina adaptándose la población microbiana. No obstante en el estudio de suelos naturales, forestales (Anderson y Domsch 1993), obtienen una relación entre valores altos del cociente metabólico y suelos naturales forestales con pH bajo.

Otros autores (Wolters y Joergensen 1991) encuentran un gradiente en el cociente metabólico, mayor, según los suelos forestales son sometidos experimentalmente a lluvia ácida, disminuyendo el pH. En ese mismo estudio la neutralización de la acidez añadida implica una recuperación, a la baja, del cociente metabólico.

Algunos autores no encuentran diferencias de biomasa microbiana en bosques ácidos sometidos a encalado y, sin embargo, describen un aumento en la respiración microbiana y, como consecuencia, un aumento del cociente metabólico (Priha y Smolander 1994). Estos autores consideran que el encalado produce un aumento de la fuente de carbono disponible, opinión muy discutible que, junto con las condiciones experimentales que aplican, hace que sus datos deban ser tomados con ciertas reservas.

La neutralización del pH de suelos agrícolas mediante prácticas de encalado favorece un aumento de la respiración microbiana. El encalado también se ha utilizado como medida de remediación en suelos contaminados con metales (Pérez de Mora *et al.* 2005). No obstante cuando se ha relacionado pH con la biomasa microbiana y el cociente metabólico en un suelo agrícola, naturalmente ácido y enmendado con calcita, se ha descrito un aumento en la masa microbiana con el aumento de pH. Pero en cuanto al cociente metabólico describen dos máximos asociados a los valores extremos de pH (Aciego Pietri y Brookes 2008). No obstante el aumento del cociente metabólico en el extremo alcalino del valor de pH lo achacan a una producción abiótica de dióxido de carbono.

En general se propone que un cambio de pH del suelo puede conducir a un cambio en la composición de las poblaciones microbianas del suelo, especialmente en la relación hongos a bacterias (H/B). Esta relación disminuye a pH alcalino y, al contrario aumenta en suelos con pH ácido. También se ha observado una correspondencia entre el qCO_2 y la relación hongos a bacterias, con una relación más alta el cociente metabólico tiende a ser más bajo y viceversa (Blagodatskaya y Anderson 1998), lo que se puede explicar por una mayor actividad respiratoria por unidad de masa bacteriana frente a una menor actividad fúngica.

Estado de desarrollo del suelo. Cronosecuencias.

En estadios tempranos del desarrollo del suelo, especialmente en aquellos con poca o incluso sin cubierta vegetal, aún presentando valores bajos de masa microbiana, la aportación del carbono microbiano al suelo será relativamente alta, ofreciendo valores altos de la relación C_{mic}/C_{org} . En esas condiciones el cociente metabólico reflejaría una actividad respiratoria alta para conseguir que la población microbiana del suelo se mantenga (Anderson 1994).

Las cronosecuencias que se pueden establecer con el retroceso de los glaciares ofrecen una oportunidad de realizar este tipo de estudios pretendiendo demostrar experimentalmente la evolución de los parámetros microbiológicos previamente mencionados (Insam y Haselwander 1989). Más allá de estas cronosecuencias en espacios naturales, la recuperación de escombreras de actividades mineras también puede seguirse a través de estos parámetros con un comportamiento predecible (Insam y

Domsch 1988) en lo que respecta a masa microbiana y relación C_{mic}/C_{org} . Más controvertido es lo que respecta al cociente metabólico, que debería ofrecer valores elevados al principio de la cronosecuencia y luego tender a estabilizarse en valores más bajos. No obstante la velocidad a la que se sigue esta tendencia depende también de la vegetación que se vaya implantando (Insam y Haselwander 1989) y de la práctica de recuperación o uso posterior del espacio minero recuperado, pudiendo ofrecer tendencias diferentes, en lo que respecta al cociente metabólico. Así, un terreno recuperado para uso agrícola, presentará valores de cociente metabólico más bajos que un terreno recuperado para uso forestal (Insam y Domsch 1988). Estos datos controvertidos indican la dificultad de interpretar este parámetro tanto en el seguimiento de la evolución del proceso de recuperación de escombreras, como también en cronosecuencias de suelos naturales (Wardle y Ghani 1995).

Actividad antrópica y alteración de los procesos edáficos.

Además de los factores que condicionan el metabolismo edáfico, mencionados anteriormente, la acción antrópica puede influir y modificar notablemente los procesos que tienen lugar en el suelo. Entre las principales causas podemos destacar el manejo del suelo y la contaminación.

Manejo del suelo. Prácticas agrícolas.

Más allá de la variación en la actividad microbiana que puede producir una práctica como el encalado, ya citada, el manejo del suelo también influye en estas variables. Así, en sistemas con agricultura intensiva se describen valores más altos de cociente metabólico que en sistemas con enmiendas orgánicas basadas en residuos de granja o en adición de compost (Böhmd *et al.* 2005; Fliebbach *et al.* 2007). La práctica del arado también altera las características del suelo (Tebrügge y Düring 1999), entre ellas la actividad de la microflora edáfica (Roldán *et al.* 2004) y la masa microbiana (González-Chávez *et al.* 2010). En cuanto a la relación C_{mic}/C_{org} se describe un valor más elevado de la misma en suelos agrícolas con rotación de cultivos frente a valores más bajos cuando la práctica es de monocultivo (Anderson y Domsch 1989; Anderson y Domsch 1990).

Contaminación del suelo.

Algunos autores aplican la estimación de la masa microbiana por SIR como parámetro ecotoxicológico, valorando el efecto que sobre este parámetro tendría la aplicación de pesticidas (Sousa *et al.* 2004), el depósito atmosférico de contaminantes provenientes de fundiciones (Klumpp *et al.* 2003) o la aplicación de fangos contaminados con metales (Barajas-Aceves 2005). Este último encuentra una relación entre la exposición a los metales del fango y la estimación de la masa microbiana.

Valores de cociente metabólico altos se han asociado a concentraciones elevadas de metales pesados en suelos (Brookes y McGrath 1984). El valor del cociente metabólico puede, al menos aparentemente, no depender claramente del contenido total de metales pesados, pero en esos casos se debería considerar la disponibilidad del metal, ya que cuando se ha analizado el cociente en suelos contaminados con metales pesados en distintas formas de disponibilidad se ha podido contrastar una respuesta de aumento del valor de cociente metabólico en aquellos suelos donde los metales se habían aplicado en forma más disponible, como sales, no siendo significativo el aumento del valor en los casos en los que la aplicación de metales había sido de forma menos disponible como fango de depuradora (Dhalin *et al.* 2010). En materia de contaminación de suelos con metales pesados y su efecto en el cociente metabólico, también se pueden recoger indicaciones en sentido contrario, esto es disminución del cociente en presencia de metales (Nordgren *et al.* 1988) y también estudios donde encuentran resultados contradictorios (Insam *et al.* 1996).

El ensayo sobre inhibición de la respirometría (Dott 1995), se propone como método para evaluar el efecto de la contaminación del suelos sobre la respirometría microbiana y como un ensayo más para clasificar el suelo para potenciales usos. Así los valores que se proponen de tasa máxima de respiración serían los valores mínimos que se indican para que el suelo se dedique a zona verde, parque o espacios de recreo (Eisentraeger *et al.* 2000).

En suelos con contaminantes orgánicos se han utilizado las variables masa microbiana, relación C_{mic}/C_{org} y cociente metabólico como índices para evaluar el proceso de descontaminación de suelos contaminados con TNT (Frische y Höper 2003) no

encontrando en estos parámetros una respuesta al proceso de descontaminación, que consiguió eliminar contaminantes orgánicos, pero no metales pesados.

Principios de Ecología de Odum. Controversias en su aplicación a conceptos relacionados con la actividad microbiológica del suelo.

En lo anteriormente expuesto se han mencionado situaciones ambientales que están o pueden estar relacionadas con las actividades mineras y /o metalúrgicas, recuperación de escombreras, contaminación del suelo con metales y del uso de variables relacionales, especialmente el cociente metabólico, en el estudio de la situación ambiental de esos suelos.

El cociente metabólico es un indicador del uso de energía por la microbiota edáfica. En diversas ocasiones se citan principios de ecología general justificando los valores de cociente metabólico que se obtienen, p.ej. en suelos de bosques con pH ácido (Anderson y Domsch 1993), donde relacionan valores altos de cociente metabólico con valores bajos de pH, por lo que lo proponen como “indicador de estrés” de la comunidad terrestre, apoyándose en Odum: “la reparación del daño producido por la perturbación requiere desviar energía utilizable en el crecimiento y en la producción para el mantenimiento” (Odum 1985). No obstante Odum mencionaba fuentes externas de perturbación y el pH ácido del suelo en bosques inalterados no puede ser considerado externo al sistema.

Un suelo puede ver alterado su pH, al recibir drenajes ácidos de minas (DAM) que pueden ir acompañados de metales. A su vez, los metales en suelo pueden tener su origen en un depósito atmosférico ligado a procesos metalúrgicos. En todo caso la respuesta a una perturbación causada, bien por un aumento de la concentración de protones en un suelo o por el aumento de la concentración de metales, podría requerir el uso de esa energía para el mantenimiento de la población más que para su crecimiento.

En general, hay unanimidad en la relación de pH bajo con cociente metabólico elevado, bien sea ese pH bajo de forma natural (Anderson y Domsch 1993, Anderson y Joergensen 1997, Blagodatskaya y Anderson 1998) o bien provocada (Wolters y Joergensen 1991), generalmente se asume que este gasto energético es debido a la activación de las bombas de protones para mantener el pH intracelular, aunque también

se da un cambio en la composición de la población, a pH ácido la relación hongos:bacterias favorece a los hongos.

La neutralización de pH ácido en suelos se relaciona con una disminución del cociente metabólico (Pérez de Mora *et al.* 2005), pero en un suelo agrícola, naturalmente ácido y enmendado con calcita se describieron valores altos de cociente metabólico en los valores extremos de pH, tanto ácido como alcalino (Aciego Pietri y Brookes 2008). En este caso si que el valor elevado de cociente metabólico se puede achacar a un cambio en la composición de la comunidad microbiana, a pH alcalino se favorece el crecimiento bacteriano (Blagodatskaya y Anderson 1998) y se produce un cambio en la estructura de la comunidad aumentando la proporción de estrategias de la r y la disminución de tamaño de los organismos, lo que se ha propuesto como una tendencia en un ecosistema perturbado (Odum 1985).

En suelos contaminados con metales se ha descrito una disminución de la masa microbiana, p. ej asociada a gradientes de contaminación, por Zn (Barajas-Aceves *et al.* 1999) y por mercurio metálico, añadido recientemente (Renella *et al.* 2002). En este caso también describieron un cambio en la estructura de la comunidad microbiana. Mientras, las tasas de respiración pueden tener valores similares al suelo no contaminado (Barajas-Aceves 2005) o presentar cierto grado de inhibición (Nordgren *et al.* 1988). En todo caso la disminución de la masa microbiana asociada con el mantenimiento de la respirometría basal conduce de forma automática a un aumento del valor de qCO_2 , tal como se ha descrito explícitamente (Brookes y McGrath 1984; Dhalin *et al.* 2010). No obstante, también se ha descrito la tendencia contraria (Bååth *et al.* 1991) y la ausencia de relación entre el contenido en metales y el qCO_2 (Insam *et al.* 1996).

Realmente debe ser la disponibilidad de los metales para los microorganismos uno de los factores que marque la posible respuesta. Pero la disponibilidad a veces no ha sido considerada por los investigadores (Brookes 1995). Además de la disponibilidad asociada a la forma en que los metales se depositan sobre el suelo (Dhalin *et al.* 2010), también la fracción disponible disminuirá con el tiempo de contacto de los metales en el suelo, fenómeno de envejecimiento. También se han descrito cambios en la población microbiana del suelo tras la contaminación por metales pesados, p.ej con mercurio

metálico (Müller *et al.* 2001). Este cambio de poblaciones puede incluir un enriquecimiento de las formas resistentes o tolerantes (Bååth 1989; Brookes 1995; Díaz-Raviña y Bååth 1996; Giller *et al.* 2009). La pérdida de disponibilidad del metal y la aparición de formas resistentes o tolerantes pueden conducir a neutralizar el efecto de los metales en la actividad de la población microbiana y además a que esta se adapte a esa nueva situación ambiental, lo que justificaría que no hubiera un efecto apreciable a través del análisis del $q\text{CO}_2$. El cambio de poblaciones no necesariamente implica un cambio en la funcionalidad microbiana, tal como se ha descrito (Müller *et al.* 2001) en suelos contaminados con mercurio donde la capacidad de degradación de compuestos orgánicos no se veía afectada. De forma más general se puede decir que la ausencia de efecto apreciable en la actividad microbiana puede ser debida al fenómeno de redundancia, ya que la misma función puede ser desarrollada por especies diferentes de microorganismos.

La retirada de la capa superficial de suelo en la minería a cielo abierto y el depósito de materiales estériles sobre la superficie de suelo natural, suponen la pérdida del recurso. La recuperación, bien espontánea o facilitada por labores de restauración, conlleva un proceso similar al de la creación de un suelo a partir de unos materiales que actuarían como la roca madre. El proceso en superficies a revegetar ha sido comparado con el proceso en cronosecuencias en suelos naturales (Insam y Haselwander 1989); en ambas situaciones sugieren aplicable el principio de que los ecosistemas tienden a evolucionar hacia estadios más eficientes en el gasto de energía (Odum 1969). Trasladan los términos del modelo de Odum, asumiendo la tasa de respiración de la comunidad a la respirometría basal y la biomasa a la masa microbiana, llegando a los términos del cociente metabólico tal como indicaron previamente (Anderson y Domsch 1993). La hipótesis se ha pretendido corroborar experimentalmente (Insam y Haselwander 1989) estudiando cronosecuencias de 0 a más de 200 años en suelos de morrena y también en suelos de minería en proceso de recuperación que se revegetaron 5 años antes de la experimentación. Los autores sustentan que en los suelos de morrena la hipótesis se cumple y en el suelo recuperado describen una subida inicial (dos años) del cociente metabólico pero disminuye posteriormente. Este mismo tipo de seguimiento, con la misma hipótesis, se aplica en recuperación de escombreras de carbón (Insam y Domsch 1988), en este caso, parte de la superficie es recuperada para uso agrícola y otra parte

para uso forestal, con uso agrícola encuentran una disminución clara en el cociente metabólico, pero no así en el espacio recuperado para uso forestal.

La interpretación del cociente metabólico como bioindicador de perturbación y desarrollo del ecosistema ha sido criticado de forma global (Warle y Ghani 1995), alegando que el índice no responde de forma predecible a cambios en el desarrollo del ecosistema y que ciertas perturbaciones en agroecosistemas, como encalado o fertilización no son seguidas por un aumento en el cociente metabólico.

Por otro lado hay autores que valoran el uso de índices ecofisiológicos, como el cociente metabólico, y se apoyan en la teoría de Odum (Odum 1969), sobre la tendencia hacia un uso eficiente de la energía, concomitante con un incremento en la diversidad durante la sucesión en el ecosistema hacia la madurez. En esta tendencia, quizá liderada por Anderson (Anderson 2003), se apoya la racionalidad del uso de información a nivel de comunidad microbiana, como el cociente metabólico y defienden la información obtenida con este parámetro para evaluar el estado de desarrollo de un suelo, de acuerdo con la teoría ecológica. También defienden la validez de este índice para comparar el efecto de diversos usos del suelo, pero indican que el cociente metabólico sólo es comparable en condiciones ambientales que no cambian y que hay factores ambientales como temperatura o humedad que influyen en la actividad fisiológica de los microorganismos y cuyos cambios afectarán al valor del cociente metabólico. Por ello, además de rechazar las críticas hacia el uso de este índice si que sugieren estar atentos a las limitaciones en el empleo de este parámetro y proponen su uso conjuntamente con la relación entre el carbono microbiano y el carbono orgánico (C_{mic}/C_{org}). En trabajos posteriores (Anderson y Domsch 2010) siguen manteniendo la aplicabilidad del cociente metabólico para entender el comportamiento de las poblaciones microbianas en el suelo y mencionan la importancia de muestrear en la misma estación para poder hacer comparaciones.

Sobre las fuentes de variabilidad que afecten al cociente metabólico se indica que la presencia de materia orgánica del suelo, si es suficiente y suficientemente disponible, conduce a un aumento de la tasa de respiración. Este aumento, aunque sea para obtener energía para el crecimiento, es anterior al propio aumento de la masa microbiana por lo que, al menos de forma temporal, se puede obtener un valor alto de respiración con

respecto a la masa microbiana. Esto da lugar a un valor alto del cociente metabólico que no es debido a una respuesta a una situación de estrés. Por ello se propuso (Dilly *et al.* 2001) relacionar el cociente metabólico con el contenido de carbono orgánico, postulando que a valores más altos de esta relación menos eficiente es el sistema.

Las indicaciones sobre las diversas fuentes de variabilidad que afectan al cociente metabólico (Anderson 2003), incluyendo la estacionalidad del muestreo (Anderson y Domsch 2010) han de ser tomadas en cuenta en el diseño experimental (Anderson 2003), y además contrastar los valores de cociente metabólico con otros parámetros (Dilly *et al.* 2001; Anderson 2003). Lo anterior debe llevar al experimentador a la situación de tener que explicar cuáles son las razones que conducen a obtener estos valores, evitando de esa forma indicar una situación de perturbación o de inmadurez de un suelo, cuando realmente haya otra u otras variables que justifiquen esos valores.

La relación C_{mic}/C_{org} es también una variable relacional que, sin embargo, no presenta tanta polémica en sus posibles interpretaciones como el cociente metabólico. Pero su significado puede ser más complicado que la interpretación de cada uno de los dos factores que intervienen en la relación, por lo que se ha de explicar su uso como indicador de actividad biológica y de acumulación de materia orgánica en el suelo. Según Dilly (Dilly 2005) integra las características de calidad de suelo, con valores altos indicando que el biotopo favorece el establecimiento y el metabolismo energético de muchos microorganismos. No obstante también se ha encontrado una tendencia a valores altos en suelos donde la contribución de los microorganismos al contenido de materia orgánica del suelo es elevada, más por la dificultad de retención de nutrientes, como en suelos de selvas tropicales (Sparling 1997) y, de forma general en suelos de uso agrícola (Jenkinson y Ladd 1981). Dentro de los suelos con uso agrícola, el valor es más elevado en rotación de cultivos que en monocultivo (Anderson y Domsch 1989), la intensidad del arado también puede influir en este parámetro. Es intuitiva la idea de que el arado tiende a mezclar la capa superficial más rica en materia orgánica con capas más profundas, lo que va a producir un efecto de dilución. También el trabajo del arado va a disgregar la materia orgánica, haciéndola más disponible para su mineralización, con lo que disminuirá incorporándose, en parte, a nueva masa microbiana (Tebrügge y Düring 1999).

En recuperación de terrenos, bien donde se haya eliminado la parte superficial del suelo, como en aquellos donde el suelo sea en realidad un acúmulo de materiales estériles, son de esperar unos valores altos de esta relación, que irá disminuyendo en las siguientes fases de rehabilitación cuando se vaya estableciendo la vegetación y vaya aportando materia orgánica (Insam y Domsch 1988). Aunque la interpretación que algunos autores han hecho de la teoría de Odum, para el caso concreto de la relación C_{mic}/C_{org} , es que en los primeros estadios de desarrollo el valor de la relación es alto y hacia estadios más maduros ese valor aumenta (Anderson 1994).

Variabilidad en parámetros ecofisiológicos y diseño experimental.

Como se explicó anteriormente la interpretación de los valores de estos parámetros obtenidos experimentalmente está sujeta a controversias. En los trabajos de revisión realizados por los propios defensores de la idoneidad del análisis de estos parámetros se sugiere una especial atención al diseño experimental. Por otro lado el empleo de estos parámetros como índice de calidad del suelo recibe también la crítica por la falta de valores de referencia (Sparling 1997). Este autor defiende como aproximaciones experimentales válidas, la evolución temporal de estos parámetros en los puntos de muestreo previamente establecidos. Esta aproximación cargada de racionalidad no obtiene siempre un resultado experimental clarificador, al menos en lo que se refiere a los parámetros relacionales comentados en el apartado anterior. También propuso como diseño experimental la obtención de valores de referencia en suelos distintos dentro de la propia zona de estudio.

III.- MATERIALES Y MÉTODOS.

III.1.- Áreas de estudio.

Las zonas en donde se ha desarrollado este estudio corresponden a dos distritos mineros. Almadén, donde se ha practicado desde la antigüedad la minería y metalurgia metálicas. La otra zona se sitúa en la Cuenca Carbonífera de El Bierzo, donde la minería del carbón comenzó su actividad en la segunda década del siglo XX.

Almadén ha compaginado la actividad minero-metalúrgica con actividades agrosilvopastorales, mientras que en El Bierzo la minería del carbón ha venido a desplazar, incluso impedir, actividades tradicionales de zonas de montaña, como la ganadería.

La orografía de Almadén está marcada por la Sierra de Cordoneros, con altitud máxima de 743 metros, mientras que las zonas de muestreo en El Bierzo están todas a mayor altitud, entre 940 y 1.440 metros.

En Almadén podemos hablar de un ombroclima semiárido, mientras que en las zonas de muestreo de El Bierzo el ombroclima es subhúmedo.

Clima, orografía, vegetación y usos diferentes en ambos lugares de estudio garantizan una variedad de situaciones que conviene tener en cuenta en el momento de interpretar el comportamiento de las variables asociadas a la actividad microbiológica. El uso de estas variables como índices de calidad de suelos presenta, entre otros, el inconveniente de la ausencia de valores de referencia (Sparling 1997). Una de las formas de superar esta limitación es obtener valores en la propia zona de estudio, con tipologías diferentes en cuanto a vegetación, usos, etc. Ésta ha sido la aproximación utilizada en este estudio.

III.1.1.- Almadén.

La etimología árabe del término que da nombre al pueblo y, por extensión, a la comarca minera, es muy ilustrativa; su significado es: la mina.

Localización.

Almadén está situado (Fig. 2) en la Comunidad Autónoma de Castilla-La Mancha, en la provincia de Ciudad Real, en su esquina suroeste, lindando al sur con la provincia de Córdoba y al Oeste con la de Badajoz. Entre las comarcas castellanas del Campo de Calatrava y el Valle de Alcudia.

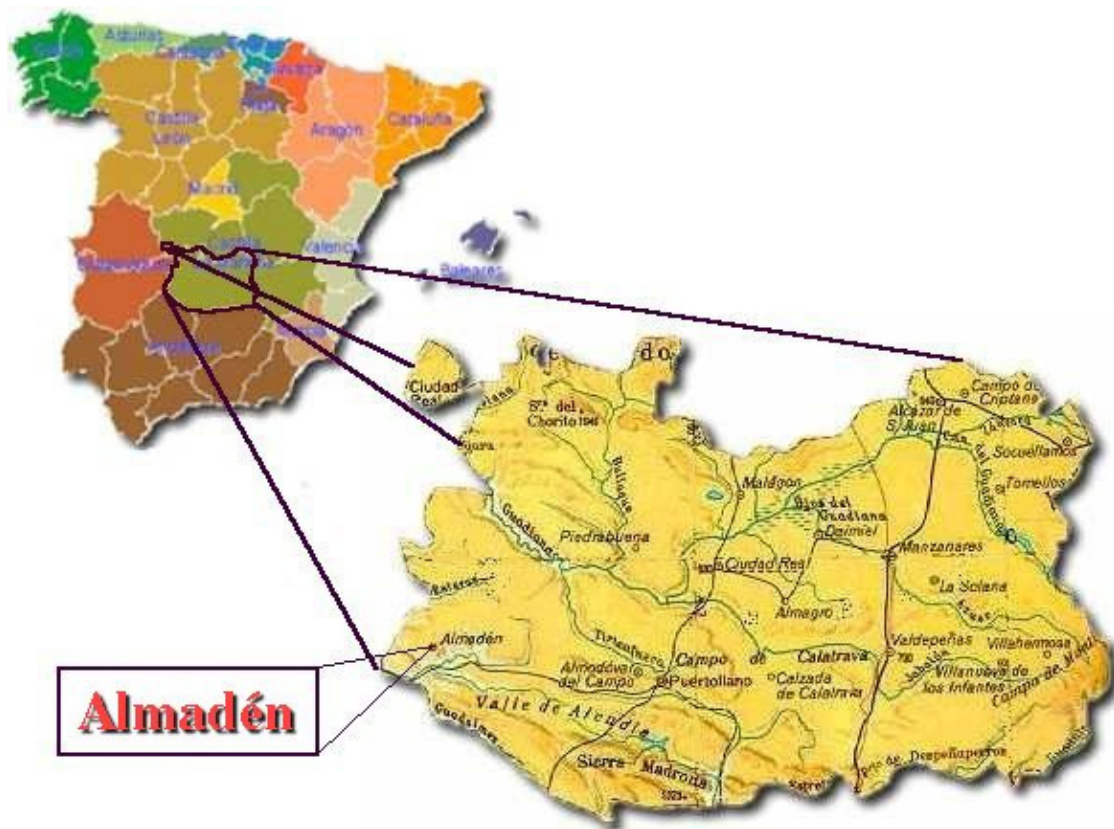


Figura 2.- Situación geográfica de Almadén.

La zona de muestreo (Fig. 3) se extiende por buena parte de la comarca minera de Almadén, siendo el punto de muestreo más oriental el que corresponde a la escombrera ubicada en “El Entredicho” y el más occidental al de una zona de agricultura intensiva. Las muestras tomadas en el extremo norte corresponden a los puntos más altos, en un

encinar cercano a la cresta de la Sierra de Cordoneros, y el punto que está más al sur se sitúa en una zona de explotación de Pb y Zn, denominada Quinto del Hierro.

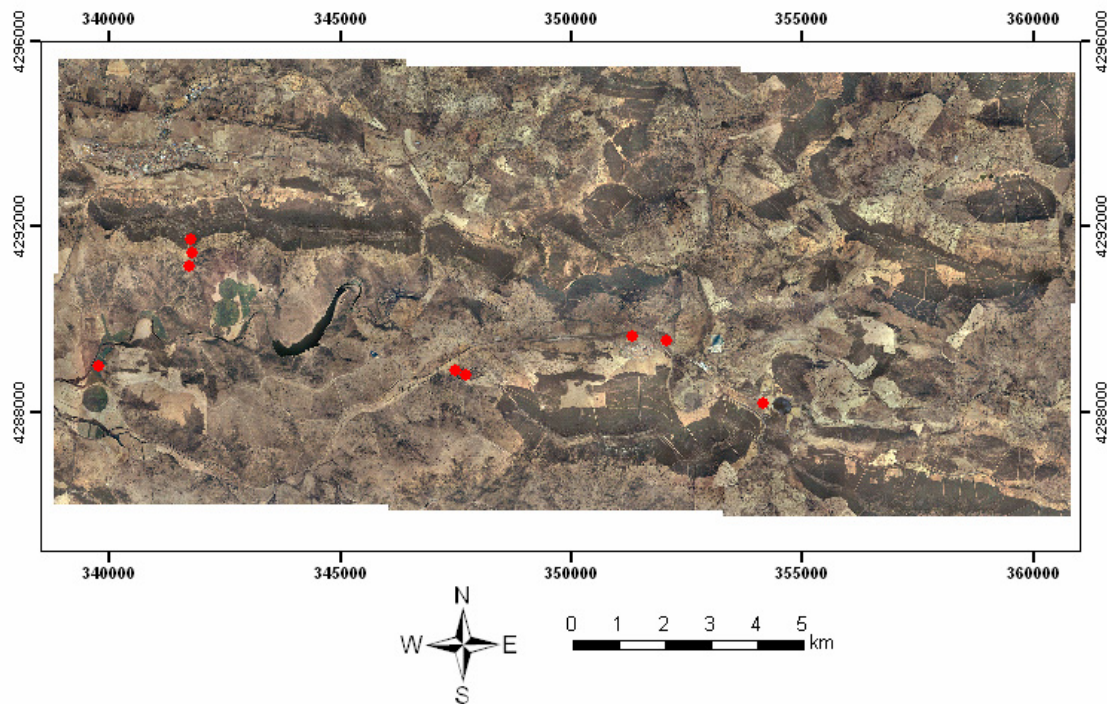


Figura 3.- Almadén, fotografía aérea incluyendo la localización de los puntos de muestreo.

Clima.

El clima de la comarca de Almadén es de tipo mediterráneo templado, con inviernos fríos y húmedos y veranos secos y calurosos. Según los datos de la estación meteorológica “Almadén. Minas”, con observaciones de más de 30 años, la temperatura media anual es de 16°C, la media de las temperaturas mínima y máxima oscila entre 1 y 8 °C en enero y entre 17 y 31°C en julio y la precipitación media anual es de 587 mm (Higueras *et al.* 2003). El balance hídrico en la región corresponde con inviernos húmedos y veranos secos. El potencial de evapotranspiración medio anual es de 963 mm, con valores más altos en el verano. Las reservas de agua decrecen durante el verano permaneciendo seco el suelo hasta las lluvias otoñales.

Litología.

La comarca de Almadén se incluye en el denominado Sinclinal de Almadén, situado en el sector meridional de la Zona Centro-Ibérica, dentro del Macizo Hespérico. El sustrato

está constituido por una sucesión paleozoica de edad Ordovícico a Devónico Superior, afectada por la orogenia hercínica. Los materiales son de naturaleza fundamentalmente detrítica (pizarras, areniscas, cuarcitas). En las series silúrica y devónica son frecuentes las intercalaciones volcánicas, que corresponden a materiales lávicos, de composición mayoritariamente basáltica. Además en toda la serie son comunes las intrusiones de rocas subvolcánicas básicas (diabasas) (Higueras *et al.* 2000).

Las rocas aflorantes más antiguas en la zona de estudio corresponden a pizarras y grauvacas precámbricas, del Vendicense, finales del Neoproterozoico (aprox. 570 millones de años) en facies turbidíticas (Gracia Sansegundo *et al.* 1987). Estos materiales están relacionados con relieves generalmente suaves en cotas de 400-500 m. Éstas se extienden ampliamente al sur de Almadén y al oeste de Almadenejos, coincidiendo con la zona de muestreo de este trabajo, en la cuenca del río Valdeazogues.

Los materiales ordovícicos más antiguos son del Tremadociense (Ordovícico Inferior, 485 a 500 m.a.), representados por: cuarcitas, areniscas, pizarras y ya en el Arenigiense (470-485 m.a.), la Cuarcita Armoricana. Estos materiales constituyen los principales relieves, como la Sierra de Cordoneros y la Cerrata, con cotas máximas de 700-800 m. En el entorno inmediato de Almadén y Almadenejos, aflora el resto de la serie Ordovícica, con una rápida sucesión de cuarcitas, areniscas y pizarras, del Llanvirniense (450 a 470 m.a) al Ashgilliense (435 a 445 m.a.), finalizando en las denominadas “Pizarras de Muro”, subyacentes a la “Cuarcita del Criadero”, ya del Silúrico Inferior (Llandoveryense, 435 a 450 m.a.). Al norte de las localidades citadas aflora ampliamente una alternancia vulcano-sedimentaria constituida por pizarras y areniscas con intercalaciones de basaltos y tobas volcánicas básicas, correspondientes al Silúrico Medio a Devónico Inferior, alrededor de 400 millones de año.

Finalmente, la actividad erosiva cuaternaria ha dado lugar al desarrollo de extensos depósitos entre los que destacan por un lado los piedemontes de las alineaciones de cuarcitas ordovícicas y, por otro, los rellenos aluviales asociados a los principales cauces.

La mineralización del mercurio en Almadén se halla ligada, en relación con los yacimientos primarios, a tres bancos de cuarcita dentro de la citada cuarcita del

Criadero, mientras que las pizarras permanecen prácticamente estériles (Álvarez Martín *et al.* 1988). Por otra parte se encuentran mineralizaciones secundarias, epigenéticas, ligadas tanto a estructuras filonianas, generalmente encajadas en rocas cuarcíticas, como a *stockworks* encajados en materiales volcánicos o volcano-sedimentarios (Hall *et al.* 1997). La mineralización es prácticamente monominerálica, constituida casi exclusivamente por cinabrio, con muy escasa pirita y barita y calcopirita ocasional. En relación con los yacimiento de Pb-Zn en la región de Almadén, es posible reconocer mineralización de sulfuros de Zn, Pb, Cu y Fe (blenda, galena, calcopirita, pirita) que encajan en materiales volcánicos intermedios ácidos, traquitas fundamentalmente, del sinclinal de Almadén.

Suelos.

En relación con los usos del suelo, la actividad minera y metalúrgica ha convivido con prácticas agrosilvopastorales, con una explotación diversificada que tiene una buena expresión en la Dehesa de Castilseras, donde encontramos pastoreo de ganado ovino y bovino, agricultura de secano y alguna parcela de regadío, pinares de repoblación y explotación cinegética.

Así pues, coexisten factores favorables para el desarrollo edáfico, tales como diversos materiales fácilmente meteorizables en pendientes suaves, con otros fuertemente limitantes, tales como la erosión favorecida por el uso agrícola, la acción antrópica asociada a la minería. Adicionalmente, en las proximidades de las cumbres, hay zonas de pendientes fuertes. Con carácter general, se trata de suelos ácidos, de textura variada, escasos en materia orgánica, aunque en nuestros puntos de muestreo hayamos determinado materia orgánica en cantidades que superan las esperadas. Estos suelos están sometidos a un fuerte déficit hídrico en periodos prolongados.

De acuerdo con el sistema de clasificación *Soil Taxonomy* (USDA 2010), estos suelos se incluyen en el régimen de humedad “xérico” y en el régimen de temperatura “mésico”. Los suelos del entorno estudiado se incluyen en los órdenes *Alfisoles*, *Inceptisoles* y *Entisoles*, y dentro de taxones asociados a dicho régimen de humedad: respectivamente a los subórdenes *Xeralfs*, *Xerepts* y *Ortehts* (grupo *Xeroorthents*).

Las zonas de mayor estabilidad geomorfológica, correspondientes a zonas de pendiente suave con escasa erosión y carentes de depósitos recientes, son favorables para el desarrollo de suelos más evolucionados, clasificados dentro del orden de los *Alfisoles* y el suborden *Xeralfs*. Se caracterizan por presentar un horizonte de acumulación de arcillas (horizonte de diagnóstico argílico) resultante del lavado (iluviación) desde horizontes superiores, proceso que requiere largos periodos de tiempo para su formación. En función del grado de desarrollo del horizonte de diagnóstico, se definen los grupos *Palexeralfs* y *Haploxeralfs*. Muestran por tanto una notable diferencia textural entre los niveles superficiales y subsuperficiales del suelo, lo que determina notables diferencias físico-químicas. De acuerdo con el sistema de clasificación de la FAO (FAO 2006), estos suelos corresponden, con carácter general, al grupo de referencia de los *Luvisoles*.

Asociados a situaciones de pendientes moderadas, con cierta estabilidad topográfica, con frecuencia de origen coluvial y con cobertura vegetal diversa se presentan *Inceptisoles* del suborden *Xerepts*. Se trata de los suelos más extendidos en un amplio ámbito de la zona de estudio (IGN 1992). Éstos, según la naturaleza del material original y la mayor o menor disponibilidad de bases de cambio, corresponderían a los grupos *Dystroxerepts* y *Haploxerepts*. Se caracterizan por la presencia de un horizonte subsuperficial con rasgos claramente diferenciados del material original, que reflejan una notable alteración de éste; no obstante, se trata de suelos más recientes en los que los procesos de iluviación no se manifiestan significativamente. De acuerdo con el sistema FAO, este tipo de suelos corresponde, con carácter general, con el grupo de referencia de los *Cambisoles*.

Localmente, en zonas forestales pueden presentarse *Inceptisoles* con un importante desarrollo de un horizonte oscuro, con o sin horizonte “cámbico”; su carácter generalmente ácido lleva a clasificarlos dentro del grupo *Humixerepts*, equivalente, dentro del sistema FAO, con el grupo de referencia de los *Umbrisoles*.

Las zonas de mayor actividad erosiva, coincidentes con carácter general con pendientes fuertes en cuarcitas y otros materiales, se caracterizan por el predominio de *Entisoles*, que, de acuerdo con el régimen de humedad serían del gran grupo *Xeroorthents*. Dentro del sistema FAO, correspondería con los grupos de referencia *Leptosoles* y *Regosoles*.

En zonas de deposición activa, correspondientes a las zonas de depósitos aluviales recientes, en los valles de los principales cauces, se presentan *Entisoles* del suborden *Fluvents* y grupo de los *Xerofluvents*, correspondientes al grupo de referencia de los *Fluvisoles* del sistema FAO.

Los materiales de origen antrópico depositados como consecuencia de las actividades mineras, carentes por tanto de rasgos de evolución edáfica, son considerados por FAO dentro del grupo de referencia de los *Tecnosoles*; estos no son recogidos expresamente en el sistema de clasificación USDA. Se caracterizan por presentar una proporción significativa de materiales de diagnóstico denominados artefactos (creados o modificados sustancialmente como parte de actividades industriales u otras), entre los que se incluyen específicamente los estériles y otros residuos de la actividad minera, ocupando extensiones significativas en el entorno de las localidades de Almadén y Almadenejos, y con carácter general en las zonas de depósito de residuos mineros.

Vegetación.

El distrito de Almadén se encuentra dentro de la región corológica Luso-Extremadurensis (Rivas Martínez *et al.* 1977), más concretamente, pertenece a la serie mesomediterránea luso-extremadurensis seco-subhúmeda y silicícola de la encina y que presenta gran variabilidad en el gradiente altitudinal. La comunidad clímax está definida por la serie *Pyro bourgaeanae - Quercetum rotundifoliae* que corresponde, en su etapa madura, a un bosque esclerófilo en el que se puede encontrar el piruétano o peral silvestre (*Pyrus bourgaena*) y en zonas umbrías o navas puede haber ejemplares de alcornoque (*Quercus suber*) o quejigos (*Quercus faginea* subsp. *broteroi*) (Rivas Martínez 1987). El paisaje típico de la zona es el compuesto por el encinar (*Quercus ilex*), con formaciones de matorral bajo, compuesto por romero (*Rosmarinus officinalis*), jaral (*Cistus sp.*), tomillo (*Thymus sp.*) y cantueso (*Lavandula stoechas*). En las zonas de menor pendiente los encinares son aclarados y usados como dehesas ganaderas de ovino o, mejoradas con riego, para bovino, compartiendo usos agrícolas para cereal o legumbre, de consumo humano o ganadero. También se da el uso cinegético y hay zonas de repoblación con pinos.

Explotación del mercurio en Almadén.

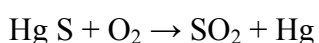
Siendo Almadén el mayor yacimiento mundial de mercurio, es razonable pensar en su utilización en la propia comarca desde la antigüedad. Así, el cinabrio ha sido utilizado en pinturas rupestres en la proximidad del casco urbano de Almadén. Por otro lado, fenicios y romanos usaron el cinabrio para tintes y posteriormente los árabes dieron un uso medicinal ya al propio mercurio, procedente de la destilación del cinabrio, “hydrargyrum”, posiblemente utilizado ya por los romanos en labores metalúrgicas.

La obtención de mercurio, o productos derivados del cinabrio, continuó en el tiempo con producciones de alrededor de una tonelada de mineral por día, en los siglos XIV y XV. Pero la patente del procedimiento de “beneficio de patio” por parte de Bartolomé de Medina, en el año 1555, ofreció un método sencillo de metalurgia de plata y oro que podía ser utilizado en las explotaciones de América; esto supuso un aumento de la demanda de mercurio. Se calcula que entre los siglos XVI y XVII se produjeron 17.250 toneladas métricas de mercurio (Hernández Sobrino 1995).

A partir de esta época se da un periodo de importante actividad minera, más o menos productiva dependiendo de la adecuación de los medios de explotación a la situación de los yacimientos, de la ocurrencia de accidentes como los incendios que paralizaban la explotación y, como todos los bienes, de la demanda de mineral. Otra limitación que se dio en determinadas épocas fue la falta de mano de obra, en parte paliada por la incorporación forzosa de penados (podían elegir ir a galeras), y otros condenados por la administración de justicia y, en época más reciente, en la postguerra, por el uso de reclusos del régimen franquista (Hernández Sobrino y Vinagre Moreno 2012).

Metalurgia del mercurio en Almadén.

El cinabrio, sulfuro de mercurio, se descompone en anhídrido sulfuroso y mercurio (vapor) en una reacción que ocurre a partir de 210°C en presencia de aire.



Una vez enfriado el mercurio vapor pasa a estado líquido, el mercurio metálico o nativo Hg^0 , que volatiliza a partir de 35°C. Con las características mencionadas se aprecia que el método de extracción del mercurio puede resultar sencillo, al realizarse además a una

temperatura baja comparada con otros procedimientos metalúrgicos. Así pues el método era conocido y aplicado desde la época de los romanos, tal como describió Plinio, colocando el mineral en un recipiente de barro cocido y éste a su vez dentro de una marmita de hierro cubierta con una tapadera cóncava. Estos métodos se mejoran por parte de los árabes con los llamados hornos de jabecas o “xabecas”, nombre que se daba al recipiente de barro donde se disponía el mineral y que, tras la cocción, había que romper para extraer el producto. Algo mejoró el proceso con los hornos de “butrones”, hornos de reverberación construidos en ladrillo que se desarrollaron en la época en que los Függer, banqueros alemanes conocidos como “Fúcares”, eran los arrendatarios de Almadén.

Los hornos conocidos como de “aludeles” o de Bustamante fueron introducidos en 1646 por Juan Alonso de Bustamante. Estos hornos fueron diseñados por Lope Saavedra Barba para la mina de Huancavelica (Perú). En este caso, los hornos propiamente dichos se sitúan en los extremos de una estructura en forma de “V”, estos hornos tienen dos pisos, en la parte más baja se coloca el combustible, inicialmente leña, que fue luego sustituida por carbón, y en la superior el mineral. Esta parte disponía de unas tuberías de plomo que conducían el vapor por la “V” central mediante un sistema de conducciones compuesto de recipientes de barro (los aludeles) unidos unos a otro y con un agujero en su parte inferior por donde, una vez condensado, el mercurio abandonaba la estructura y era recogido en el exterior; una vez tratada la carga de mineral estas estructuras se desmontaban para recuperar el mercurio que hubiera quedado retenido. Estos hornos se vinieron a utilizar en Almadén hasta 1928.



Figura 4.- Hornos de aludeles o Bustamante en el cerco de Almadén.

Entre 1905 y 1954 se utilizaron hornos de funcionamiento continuo, en los que se introducía el mineral por la parte superior y la escoria se retiraba por la parte inferior; en estos hornos el mineral se mezclaba con el carbón y llegaba a alcanzar temperaturas de 800°C. Los gases pasaban a condensadores verticales y posteriormente a una cámara con un laberinto interior antes de salir por la chimenea. En 1954 se instalaron los hornos de solera múltiple que se vinieron a utilizar hasta el fin de las actividades metalúrgicas. Son del tipo Pacific-Herreshor y usaban propano como combustible. El mineral triturado se introduce por la parte superior del horno realizando un movimiento en espiral durante su descenso. La temperatura máxima del horno es de 750°C y el contenido de mercurio de la escoria no supera el 0,02%. Los gases después de pasar por un ciclón para eliminar el polvo, llegan a los condensadores donde se enfrían, depositándose el mercurio en unas pilas con agua. Los hollines, por su parte, son tratados por el procedimiento Almadén CENIM mediante el uso de sosa cáustica y sulfuro de sodio a 901°C en un reactor agitado para separar así el mercurio.

Explotaciones minero-metalúrgicas.

Hay una serie de minas en el entorno de Almadén, incluyendo la propia mina situada en el núcleo urbano que ha producido 7,5 millones de frascos (el frasco contiene 37,5 Kg de mercurio). Otras minas de interior, Nueva y Vieja Concepción, así como las Cuevas han producido más de 0,5 millones de frascos. La única explotación a cielo abierto ha sido la mina de El Entredicho, con 0,35 millones de frascos producidos entre 1978 y 1997. Se conocen alrededor de 70 instalaciones mineras y metalúrgicas en el entorno de Almadén, entre ellas otras explotaciones asociadas con la minería del plomo y el zinc, como la explotación minero-metalúrgica del Quinto del Hierro explotada desde la época de los romanos hasta el siglo pasado (Blanco Farga *et al.* 1997). Esto implica la distribución por la comarca minera de instalaciones diversas que actualmente pueden formar parte de un rico patrimonio arqueológico minero-metalúrgico del que seguramente queden instalaciones por descubrir.

Épocas de muestreo.

Las épocas en las que se tomaron las muestras corresponden a máximos de actividad biológica para las latitudes propias de la Península Ibérica. La elección se hace para evitar obtener datos especialmente bajos en las variables fisiológicas de actividad microbiológica, que sean debidos a situaciones estacionales. La elección de la fecha,

bien entrada la estación, también se hace para evitar situaciones meteorológicas puntuales que puedan producirse, especialmente al principio de cada estación. Se ha buscado una situación lo más cercana posible a un estado estacionario para la época del año.

A pesar de estas cautelas los dos primeros muestreos de Almadén estuvieron precedidos y acompañados de precipitaciones abundantes como se detallará. En las figuras 3 y 4 se ofrecen los datos de pluviometría anual, desglosado en trimestres, de las estaciones meteorológicas de Almadén (Minas) y de Gargantiel:

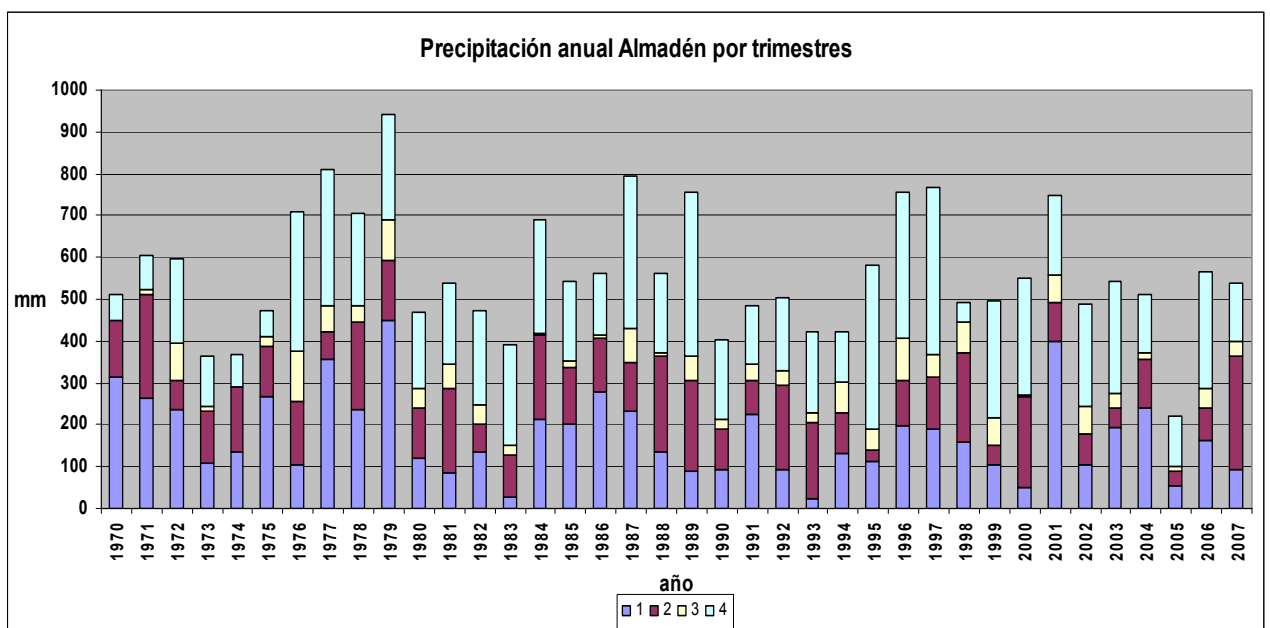


Figura 5.- Precipitación anual estación meteorológica de Almadén – Minas.

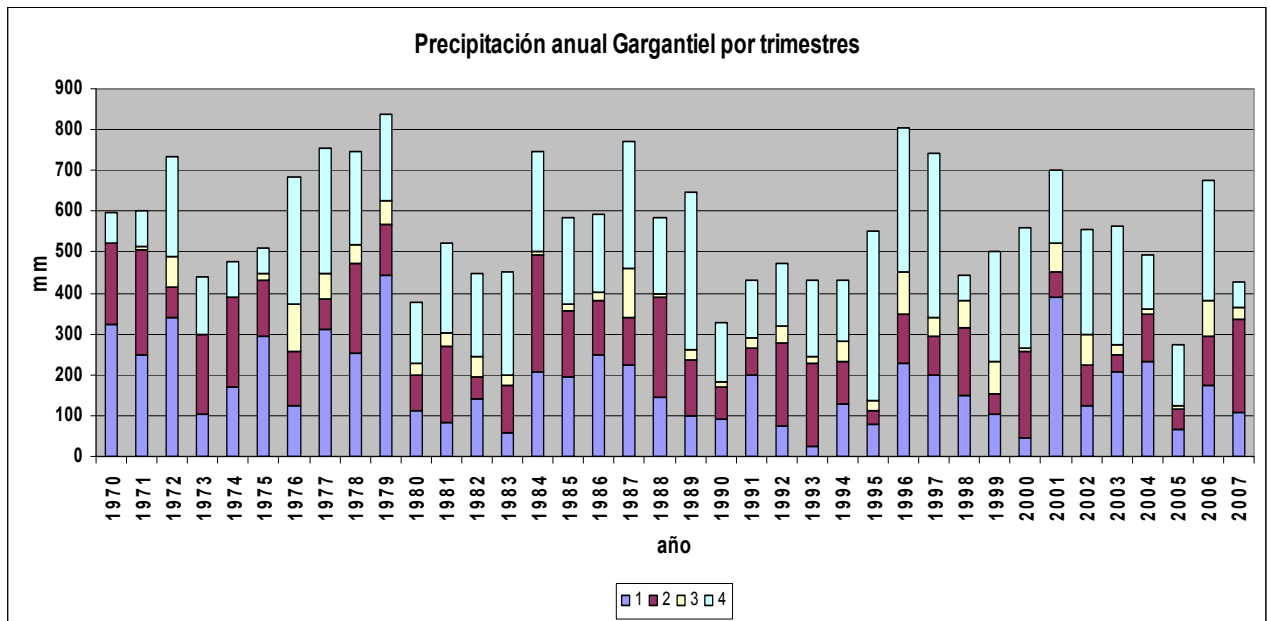


Figura 6.- Precipitación anual estación meteorológica de Gargantiel.

Es de destacar que el año anterior al primer muestreo la precipitación anual fue la menor de las registradas desde 1970.

Las variaciones de humedad y temperatura del suelo en lapsos de tiempo cortos pueden tener efecto en las variables del suelo que se miden por respirometría. Las fluctuaciones de la humedad en campo, especialmente en ciclos de humectación después de periodos secos si influyen en la respirometría, tal como se ha descrito (Wardle y Parkinson 1990b), tras muestrear cada 3-5 días en campo coincidiendo la toma de muestras con momentos antes y después de que lloviera y observando un pico en la medida inmediatamente posterior a la lluvia, retornando a los valores previos en la siguiente medida.

Parcelas y puntos de muestreo en Almadén.

En el escenario de Almadén se tomaron muestras en parcelas que fueran representativas de la variabilidad espacial de la comarca. La selección de dichas parcelas se vio apoyada por trabajos previos de investigación realizados en la Comarca Minera de Almadén por parte del CIEMAT. La estratificación espacial responde a los objetivos que se persiguen en este trabajo.

En la tabla 5 se hace una descripción breve de las parcelas elegidas y se indican los acrónimos empleados para referenciar su uso o estado. En los gráficos y tablas del capítulo de resultados se incluirá el código del punto de muestreo y también el acrónimo de uso/estado.

Los códigos de uso/estado son los siguientes:

AM.- Se ha usado para denotar aquellas parcelas donde, independientemente de su uso actual, se ha detectado algún tipo de afectación potencial por las actividades mineras o metalúrgicas.

DP.- Dehesa de pasto, ganado ovino, redil amplio al aire libre, donde se disponen terrones de sal para el ganado.

AR.- Dehesa abierta con prácticas de laboreo convencional.

BM.- Bosque mediterráneo, zona cerrada de encinas, poco accesible y apenas alterada por la actividad antrópica.

Tabla 5.- Puntos de muestreo en Almadén.

NÚMERO DE PARCELA	PUNTOS DE MUESTREO	DESCRIPCIÓN	USO	CODIGO USO/ ESTADO
3	b	Vega Quinto del Hierro	Dehesa cerealista	AM
	c	Instalación abandonada del Quinto del Hierro	Minería y metalurgia del Pb y del Zn	
4	1 a 5 (a.i)	Dehesa, loma de la colina, muestreo en transecto altitudinal	Dehesa de pasto	AM
5	2, 4 y 6	Antiguos hornos metalúrgicos de Almadenejos. Muestreo en transecto altitudinal	Zona de estabulación de ganado	AM
6	1, 3 y 5	Zona de la Dehesa de Castilseras	Redil –amplio- para ganado ovino	DP
7	1, 4, 7 y 10	Dehesa arada, a media ladera de la Sierra de Cordoneros	Barbecho desde 2006, pastoreo ocasional	AR
8	2 y 3	Bosque mediterráneo al pie del roquedo de la Sierra de Cordoneros	Natural	BM
9	4	Loma natural al pie de escombrera superior de El Entredicho	Pie de Escombrera	AM
S	S	Vega de la Dehesa de Castilseras, cultivo intensivo	Tierra de labor	AR

Las coordenadas de los puntos de muestreo están referenciadas en el Huso 30.

Parcela AM(3). En esta parcela se seleccionaron dos puntos de muestreo que correspondían a una misma zona, el Quinto del Hierro, pero el uso de cada uno de ellos es muy diferente, por lo que han sido considerados como escenarios diferentes. Aunque se mantuvo el número de parcela para distinguirlas se les asignó letras diferentes, a y b. Denominación: Quinto del Hierro.

Campañas de muestreo: otoño de 2007 y primavera de 2008.

Punto de muestreo AM (3.b).

Denominación: Quinto del Hierro (vega)

Coordenadas: Latitud N 4288901

Longitud E 347647

Altitud: 462 m

Observaciones: Dehesa con uso agrícola, cerealista, es un suelo con un aspecto muy oscuro, una superficie muy llana con un material muy suelto en el que el cilindro para densidad aparente se puede introducir prácticamente a mano. Se encuentra al lado de una pista forestal que la separa de las instalaciones del Quinto del Hierro. Fotografía de la parcela en la Figura 7.



Figura 7.- Punto de muestreo AM(3.b) Quinto del Hierro (vega).

Punto de muestreo AM(3.c).

Denominación: Quinto del Hierro (mina)

Coordenadas: Latitud N 4288781

Longitud E 347702

Altitud: 464 m

Observaciones: Terreno en el que son evidentes las ruinas de las instalaciones metalúrgicas, el punto de muestreo se tomó en una zona de posible tránsito, muy

cercana a las chimeneas, aproximadamente a 3 m de la encina que se observa en la Figura 8.



Figura 8.- Punto de muestreo AM(3.c). Quinto del Hierro (mina).

Parcela AM(4). Es una zona adhesionada (Fig. 9) utilizada eventualmente para pasto de siega. Se encuentra muy próxima a Almadenejos, en línea recta a 500 m aproximadamente de la instalación metalúrgica ubicada en la parcela 5. Entre la parcela y los hornos se encuentra la línea de ferrocarril con un cargadero que daba servicio a la instalación metalúrgica. La zona adhesionada donde se ha muestreado es en la loma de la colina. Se tomaron 5 puntos de muestreo, el más alto a 502 m y el más bajo a 498 m.

Denominación: Cresta frente a estación.

Campañas de muestreo: otoño de 2006 y primavera de 2007.



Figura 9.- Parcela AM(4). Vista general de la parte media-baja de la loma.

La ubicación de los puntos de muestreo es la siguiente:

Punto de muestreo AM(4.1).

Coordenadas: Latitud N 4289536

Longitud E 352047

Altitud: 502 m

Punto de muestreo AM(4.2).

Coordenadas: Latitud N 4289544

Longitud E 352052

Altitud: 500 m

Punto de muestreo AM(4.3).

Coordenadas: Latitud N 4289529

Longitud E 352057

Altitud: 501 m

Punto de muestreo AM(4.4).

Coordenadas: Latitud N 4289519

Longitud E 352059

Altitud: 500 m

Punto de muestreo AM(4.5).

Coordenadas: Latitud N 4289525

Longitud E 352060

Altitud: 498 m

Parcela AM(5). Esta en el cerco de los hornos de Almadenejos. Los hornos están en ruinas, aunque aún quedan restos de los residuos metalúrgicos dentro del propio recinto. Al menos desde el otoño de 2006 los vecinos de Almadenejos usan el lugar a modo de corral, de forma casi permanente para porcino (Fig. 10), muy frecuente vacuno y ocasionalmente equino. Este emplazamiento pasa por ser el lugar más contaminado de la comarca de Almadén. El aspecto original de los hornos sería similar al mostrado en la fotografía de los hornos de aludeles (Fig. 4). Las muestras se toman en un transecto altitudinal en la mitad de la parcela, entre dos filas de hornos (Fig. 11).

Denominación: Hornos de Almadenejos.

Muestreos de otoño de 2006 y primavera de 2007.



Figura 10.- Parcela AM(5) desde la entrada al cerco.

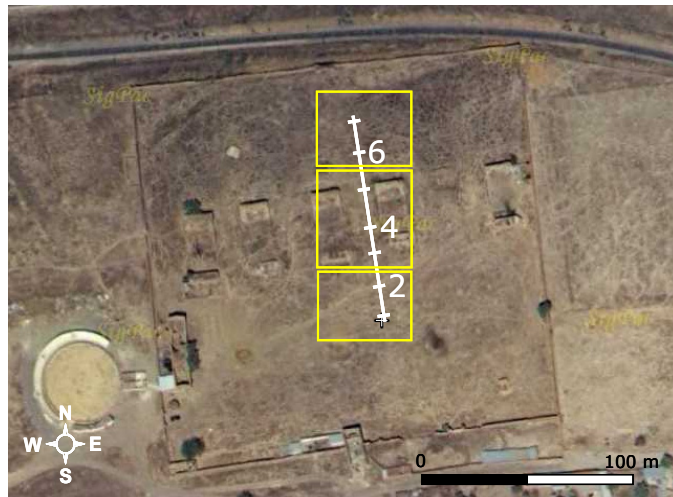


Figura 11.- Vista aérea de los hornos de Almadenejos en la parcela AM(5).

Punto de muestreo AM(5.2).

Coordenadas: Latitud N 4289569

Longitud E 351309

Altitud: 509 m

Punto de muestreo AM(5.4).

Coordenadas: Latitud N 4289608

Longitud E 351306

Altitud: 507 m

Punto de muestreo AM(5.6).

Coordenadas: Latitud N 4289647

Longitud E 351301

Altitud: 505 m

Parcela DP(6).- Se encuentra situada en la Dehesa de Castilseras, como una continuidad N → S de las parcelas 7 y 8 (Fig. 12). Es una zona de dehesa en la que se recoge el ganado ovino y donde se les suministra sal. Las muestras están repartidas en un transecto altitudinal (Fig. 13).

Denominación: frente a Sierra de Cordoneros.

Campañas de muestreo: otoño de 2007 y primavera de 2008.

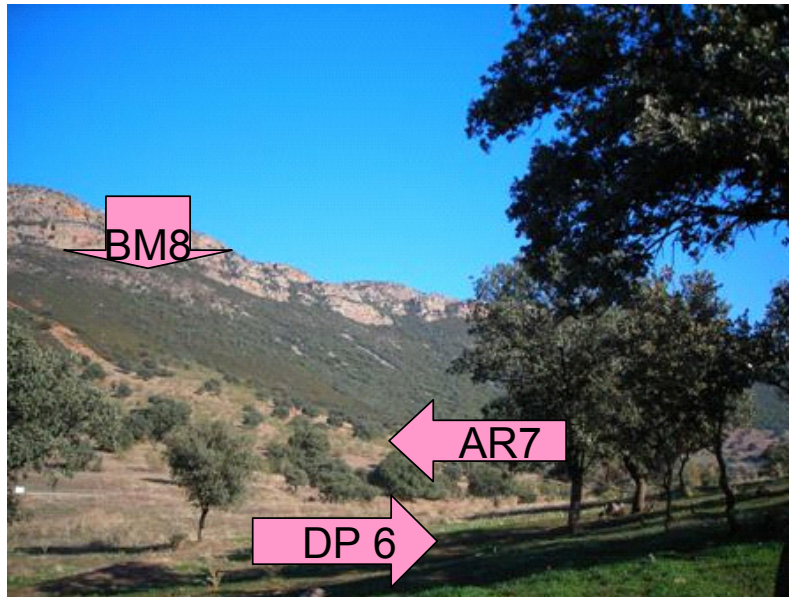


Figura 12.- Panorámica de las parcelas DP(6),AR(7) y BM(8) en la parte alta de la Dehesa de Castilseras.



Figura 13.- Aspecto de la parcela 6 en el punto DP(6.3), durante la toma de muestras para densidad aparente en otoño de 2008.

Punto de muestreo DP(6.1).

Coordenadas: Latitud N 4291118

Longitud E 341769

Altitud: 496 m

Punto de muestreo DP(6.3).

Coordenadas: Latitud N 4291135

Longitud E 341736

Altitud: 492 m

Observaciones: en este punto se aprecian restos de la sal que se suministra al ganado.

Punto de muestreo DP(6.5).

Coordenadas: Latitud N 4291134

Longitud E 341678

Altitud: 482 m

Parcela AR(7).- Se encuentra situada en la Dehesa de Castilseras, en la falda de la Sierra de Cordoneros. En el primer muestreo presentaba aspecto de haber sido roturada recientemente, y el efecto se ha mantenido durante los distintos muestreos; aunque no se ha observado mayor uso agrícola de esa parcela desde aquel momento, sí que se ha observado su uso para pastoreo extensivo. Es un punto muy próximo a la parcela 6, de la que la separa una pista forestal a la altura de un pequeño collado. El muestreo siguió un gradiente longitudinal, aunque es remarcable la diferencia de altitud entre el punto más alto y el más bajo. La vegetación de porte arbóreo es de encinas y como arbustos aparecen retamas. Los puntos de muestreo 1 y 10 están en los extremos del transecto.

Denominación: Sierra de Cordoneros parte baja.

Muestreos otoño de 2006 y primavera de 2007.



Figura 14.- Detalle de la parcela AR(7), desde el punto de muestreo AR(7.10).

Punto de muestreo AR(7.1).

Coordenadas: Latitud N 4291519

Longitud E 341776

Altitud: 518 m

Punto de muestreo AR(7.4).

Coordenadas: Latitud N 4291445

Longitud E 341783

Altitud: 500 m

Punto de muestreo AR(7.7).

Coordenadas: Latitud N 4291430

Longitud E 341824

Altitud: 486 m

Punto de muestreo AR(7.10).

Coordenadas: Latitud N 4291396

Longitud E 341838

Altitud: 480 m

Parcela BM(8).- Se encuentra situada en la parte alta de la Sierra de Cordonereros (Fig. 15), en un bosque cerrado de encinas, donde no se aprecia ningún tipo de intervención. Se toman dos puntos de muestreo.

Denominación de la parcela: Sierra de Cordonereros parte alta.

Muestreos en Otoño de 2006 y Primavera de 2007.

Punto de muestreo BM(8.2).

Coordenadas: Latitud N 4291717

Longitud E 341746

Altitud: 545

Punto de muestreo BM(8.3).

Coordenadas: Latitud N 4291691

Longitud E 341754

Altitud: 545



Figura 15.- *Aspecto del bosque donde se localizan los puntos BM(8.2) y BM(8.3).*

Parcela AM(9).- Corresponde a la escombrera de El Entredicho. Es sólo un punto el que se toma (9.4) y que se localiza en la parte superior del talud de la pista, en una estrecha franja de terreno no cubierto por la escombrera (Figs. 16 y 17).

Denominación: El Entredicho-Laguna. Escombrera alta.

Muestreos en otoño de 2006 y primavera de 2007.

Punto de muestreo AM(9.4).

Coordenadas: Latitud N 4288170

Longitud E 354151

Altitud: 480 m



Figura 16.- *Localización del punto de muestreo AM(9.4) en la pista, entre una sección de la escombrera y la Laguna de El Entredicho.*



Figura 17.- Proximidad del punto de muestreo AM(9.4).

Parcela AR(S).- Parcela con un solo punto de muestreo que corresponde con una zona de cultivo intensivo de regadío para alfalfa/veza (Fig. 18).

Denominación: "S".

Muestreos en otoño de 2007 y primavera de 2008.

Punto de muestreo S

Coordenadas: Latitud N 4288982

Longitud E 339740

Altitud: 387 m



Figura 18.- Parcela AR(S).

III.1.2.- El Bierzo

Localización.

La zona de estudio se sitúa en la Comarca de El Bierzo (Fig. 19), al oeste de la provincia de León (Comunidad Autónoma de Castilla y León) y tiene una extensión aproximada de 290.000 ha. En ella se ubica la Cuenca Carbonífera de El Bierzo, que discurre de este a oeste en una distancia de 70 km entre los ríos Luna y Cúa; la anchura máxima alcanza los 20 km en su parte central; los núcleos de población que limitan la cuenca son: al este Valdesamario, en el centro Noceda, al oeste Fabero y al sur Torre del Bierzo (Vadillo Fernández 2010).



Figura 19.- Localización geográfica de la zona de estudio de El Bierzo.

Dentro de la Cuenca Carbonífera, el área de Tremor de Arriba es una de las zonas donde se presentan impactos más acusados de la actividad minera, (Vadillo Fernández *et al.* 2006), con varios cielos abiertos, escombreras de minería de interior, así como

lavaderos y bocaminas con drenajes ácidos. Afecta a más de 200 ha y la actividad minera ha introducido cambios en la hidrografía, la dinámica fluvial y tiene una importante afectación por ocupación de fondos de valle con eliminación de la vegetación.

Entre los núcleos de población de Tremor de Arriba e Igüeña se encuentra el Río Rodrigatos, en cuya cuenca encontramos diversas tipologías de afectación, uso o estado de suelos, por lo que se ha tomado como zona de estudio, que se ha complementado con tres puntos de muestreo, próximos pero fuera de la cuenca del Rodrigatos. Los tres corresponden a escombreras con diferentes estadios de revegetación. La cuenca superior del Rodrigatos, en el término municipal de Igüeña, limita al oeste con esa localidad, al este con la de Tremor de Arriba y al sur con la población de Rodrigatos de las Regueras. Los puntos de muestreo se han tomado en altitudes entre 970 y 1.440 m.

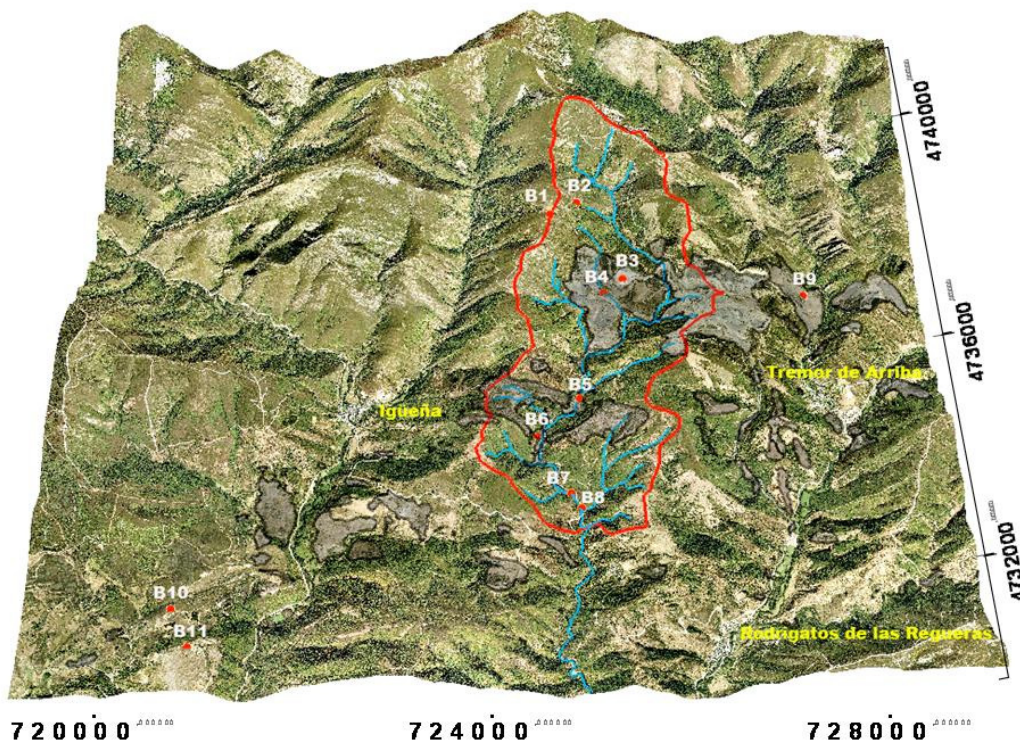


Figura 20.- Localización de los puntos de muestreo en El Bierzo.

Clima.

La presencia de la Cordillera Cantábrica al norte de El Bierzo es el factor más influyente sobre el clima a escala regional. Todas las diferencias climáticas apreciables en esta área están gobernadas por las diferencias en altitud. Los vientos dominantes, de procedencia atlántica, descargan su humedad en la vertiente norte, mientras que la meridional que recibe vientos del interior o flujos oceánicos secos, muestra rasgos de carácter mediterráneo. La zona de estudio, al estar situada en la parte oriental de la Comarca de El Bierzo, se enclava en la región mediterránea (Arranz González 2004), y considerando la altitud de los puntos de muestreo y las precipitaciones anuales obtenidas en la estación de Tremor de Arriba, se puede afirmar que el ombroclima es húmedo.

Las precipitaciones anuales obtenidas en la estación de Tremor de Arriba son de 1.189 mm con una temperatura media anual de 9,9°C. La estación más húmeda es el invierno seguida de la primavera y el otoño. En este entorno montañoso y de umbrías son frecuentes las heladas, que se pueden dar desde primeros de septiembre hasta mediados de junio. Así pues, ese entorno se puede considerar frío con heladas frecuentes. La evapotranspiración está en torno a 650 mm anuales y el balance hídrico tiene exceso en invierno y un déficit anual alrededor de 178 mm, siendo julio y septiembre meses relativamente secos y agosto seco, dando lugar a un periodo seco moderado, característico del clima mediterráneo húmedo (Vadillo Fernández *et al.* 2006).

Litología.

Desde un punto de vista litológico, la zona de estudio está constituida por materiales correspondientes a la Zona Asturoccidental-Leonesa (Marcos 2004). Los materiales objeto de explotación minera pertenecen a las denominadas Cuencas Carboníferas Productivas Estefanienses. Se trata de depósitos de carácter molásico en su base, que comienzan con conglomerados y siguen con areniscas, limolitas y capas de carbón. Estratigráficamente, estos depósitos sinorogénicos (orogenia Hercínica), se sitúan discordantes sobre materiales preorogénicos, que comprenden, de muro a techo:

- Cuarcitas, areniscas, pizarras y limolitas de la Serie de los Cabos; esta serie es del Cámbrico Medio a Ordovícico Inferior.
- Pizarras, areniscas ferruginosas y cuarcitas, correspondientes a las capas de transición. Ordovícico Inferior al Ordovícico Medio.
- Pizarras negras –pizarras de Luarca-, del Ordovícico Medio y areniscas, limolitas y pizarras de la formación Agüeira, del Ordovícico Medio a Superior. (Rodríguez Fernández *et al.* 1982)..

Los materiales de edad carbonífera afloran extensamente al sur del núcleo urbano de Igüeña y en el entorno de Tremor de Arriba, presentándose en general en cotas inferiores a los 1.300 m con una morfología característica de áreas culminantes de relieve suave (Vadillo Fernández *et al.* 2006). Al norte de Igüeña afloran las areniscas, limolitas y pizarras de la Formación Agüeira, en cotas de hasta 1.400 m; los restantes materiales preorogénicos se disponen topográficamente sobre los anteriores, constituyendo la cabecera del Río Rodrigatos; así, afloran extensamente las Pizarras de Luarca, y más localmente, en una estrecha banda en disposición aproximada E-W, las pizarras, areniscas ferruginosas y cuarcitas de las capas de transición. Los relieves más notables y de cotas más elevadas, en la Sierra de Fernán Pérez, 1.818 m, corresponden a las cuarcitas, areniscas, pizarras y limolitas de la Serie de los Cabos.

Si bien, con frecuencia, las zonas de cumbre presentan relieves suaves, las laderas constituyen formas cóncavas con pendientes frecuentemente acusadas que favorecen la actividad erosiva, siendo el proceso activo dominante la erosión por escorrentía superficial (Rodríguez Fernández *et al.* 1982); estas laderas están parcialmente tapizadas con depósitos coluviales de potencia variable. Los fondos de valle principales muestran depósitos aluviales o aluvio-coluviales de extensión muy limitada.

Suelos.

Como principales factores formadores de los suelos en la zona de estudio, cabe destacar, entre los materiales parentales, la presencia de pizarras, areniscas, cuarcitas y limolitas, los cuales se asocian generalmente a pendientes moderadas y fuertes, con procesos de erosión activa.

Los usos del suelo resultan determinantes en las características de los suelos existentes, ya que, por una parte, la actividad minera ha traído consigo la eliminación directa de grandes extensiones de suelos y la formación de escombreras sobre otras superficies naturales, así como la contaminación de suelos naturales presentes en cotas inferiores a las explotaciones. Por otra parte, suelos de antiguo uso ganadero, en extensas superficies, han sido sometidos a removilización dentro de actividades recientes de repoblación forestal.

La actividad erosiva asociada a las fuertes pendientes y elevada pluviometría y favorecida por los usos del territorio constituye un factor fuertemente limitante del desarrollo edáfico. Así predominan suelos caracterizados tan sólo por un horizonte superficial, variable en espesor y en el grado de incorporación de materia orgánica. A dicho horizonte, subyace directamente el material original, bien roca coherente, o bien depósitos de diversa tipología; son por tanto suelos poco evolucionados de perfil A/R o A/C. Con carácter general se trata de suelos con fuerte acidez y buen drenaje.

De acuerdo con *Soil Taxonomy* (USDA 2010), a estos suelos puede asociarse un régimen de humedad de tipo “xérico” y un régimen de temperatura de tipo “mésico”. No obstante, en cuanto al régimen de humedad se puede considerar como una zona de transición al “ústico” o el “ústico” (IGN 1992). Considerando que las muestras se han tomado entre 970 y 1.440 m de altitud, parece razonable considerar que el régimen de humedad al que están sometidos estos suelos pueda corresponder más con las características del régimen “ústico”.

En el ámbito de estudio, los suelos muestran dos tipologías básicas. Por un lado, los suelos que presentan un horizonte superficial muy somero, o pobre en materia orgánica (horizonte “ócrico”), bajo el que aparece directamente el material parental, corresponden, según el sistema de clasificación *Soil Taxonomy*, con el orden *Entisoles*. Se trata de suelos cuya evolución está fuertemente limitada, bien por un rejuvenecimiento continuo por erosión, bien por deposición reciente. Dentro de los *Entisoles*, se define con carácter general el suborden *Orthents*, asociado a una elevada actividad erosiva. Son suelos de perfil A/C o A/R, según el grado de consolidación de la roca subyacente. Ya con carácter muy local, el suborden *Psamment* se asocia a depósitos no consolidados muy arenosos, y el suborden *Fluvents*, a depósitos aluviales

recientes en los principales fondos de valle. Según la Base Mundial de Referencia de Suelos (FAO 2006), estos suelos se corresponden con *Regosoles* (sobre roca no consolidada), *Leptosoles* (sobre roca consolidada), *Arenosoles* (sobre material parental muy arenoso) y *Fluvisoles* (en depósitos aluviales recientes). En esa edición de la Base Mundial de Referencia de Suelos, se incluye un grupo que hace referencia, entre otras situaciones, a los depósitos de residuos mineros; este grupo de suelos se denomina *Tecnosoles*.

Por otro lado se presentan suelos con rasgos de evolución algo más evidentes, bien por el desarrollo de un horizonte superficial más profundo, ácido y rico en materia orgánica (horizonte “úmbrico), bien por la presencia de un horizonte subsuperficial con unas propiedades diferentes a las del material parental (horizonte “cámbico”), pudiendo darse conjuntamente ambas situaciones. La presencia de estos horizontes implica unas condiciones de mayor estabilidad geomorfológica que en el caso de los *Entisoles*. De acuerdo con *Soil Taxonomy*, estos suelos corresponden al orden *Inceptisoles*, y según los diferentes regímenes de humedad del suelo, a los subórdenes *Xerepts*, *Ustepts* y *Udepts*, coincidiendo con el incremento en altitud. Con carácter general se trata de suelos con bajo pH y de textura mayoritariamente arenosa, con perfil A/C o A/R donde A corresponde a un horizonte “úmbrico”. La Base Mundial de Referencia clasifica estos suelos dentro de los grupos *Umbrisoles* (con horizonte úmbrico), *Leptosoles* (con úmbrico y roca coherente próxima a la superficie) y *Cambisoles* (con horizontes ócrico y cámbico).

Vegetación.

La vegetación de El Bierzo presenta unos rasgos específicos que vienen determinados, al igual que las condiciones climáticas a escala regional, por la barrera montañosa que delimita la comarca, existiendo un fuerte contraste entre la fosa tectónica y las áreas montañosas donde, de forma mayoritaria, se ubican las explotaciones de carbón. La cuenca carbonífera está situada casi íntegramente dentro del piso bioclimático supramediterráneo, aunque el norte de la misma pueda corresponder en parte y limitar en otras, con el piso bioclimático eurosiberiano (Rivas Martínez 1988). Tanto en las zonas correspondientes a piso bioclimático supramediterráneo o eurosiberiano, las especies que se encuentran en estadios de madurez son silicícolas o acidófilas y corresponden con bosques de roble melojo (*Quercus pyrenaica*). A menor altitud, en la

comarca de El Bierzo e incluso dentro de la Cuenca Carbonífera también se encuentran bosques, menos extensos que los anteriores, de encina (*Quercus ilex*).

En la zona de muestreo, la vegetación potencial (Zaballos Soriano *et al.* 2010) corresponde a la serie supramediterránea carpetano occidental, orensano-sanabriense y leonesa húmeda-hiperúmeda del roble melojo (*Holco mollis-Querceto pyrenaicae* S.). Se trata de bosques de *Quercus pyrenaica* (melojo, rebollo o roble negro) con un estrato herbáceo que presenta especies como *Luzula forestri*, *Holcus mollis*, *Ajuga occidentalis*, *Viola riviniana* y *Physospermum cornubiense*.

El matorral denso correspondiente a esta serie está constituido por piornales que corresponden a la asociación *Cytiso scoparii-Genistetum polygalliphyla*, caracterizados por la presencia de *Cytisus scoparius*, *Genista florida* subsp *polygalliphyla*, *Erica arborea* y *Pteridium aquilinum*.

Los matorrales correspondientes a etapas de mayor degradación del melojar están constituidas por brezales, pertenecientes a la asociación *Pterosparto lasianthi-Ericetum aragonensis*, en los que predomina el brezo rojo (*Erica australis*) y la carqueixa (*Pterostratum tridentatum*), acompañados por *Erica cinerea*, *Erica umbellata*, *Calluna vulgaris* y *Halimium lasianthum*, entre otras.

El uso ganadero del terreno ha conducido al aclarado del robledal para dar paso a zonas de pastizal que, según disminuye la carga ganadera, se va abandonando. Esta circunstancia, junto a la ocurrencia de incendios y las talas, ha propiciado la expansión de los brezales, citados como etapa regresiva de los robledales de *Q. pyrenaica*.

En la Cuenca Carbonífera y en parte en zonas próximas a nuestros puntos de muestreo más orientales se aprecian repoblaciones de pinos (pino resinero, pino albar, etc.), mientras que en las vegas de los ríos se concentran las repoblaciones de chopos, los cultivos y los pastos de siega. Los bosques de galería si se han mantenido, como una estrecha banda a lo largo de las orillas de gran parte de los arroyos y ríos.

Finalmente hay que mencionar la presencia de manchas y bosquetes de castaño, *Castanea sativa*, especie introducida por el hombre y que requiere condiciones similares

a los melojares. Actualmente, el castaño se encuentra casi espontaneizado en la zona, quizá como resultado del abandono de las explotaciones tradicionales del monte.

Actividad minera en la zona de estudio.

Sobre la riqueza carbonífera en la provincia de León se dispone de informes de 1764, sobre la existencia de bancos de carbón en las proximidades de Cerezal de Tremor, elaborados por Carlos Le-Maur, teniente coronel del cuerpo de ingenieros y responsable de la construcción del camino que enlazaba Galicia con Madrid. Se sabe que construyó varias herrerías en la zona de Torre del Bierzo que debieron usar carbón mineral como combustible (Alberruche del Campo 2010).

El arranque de la industria minera leonesa se inicia realmente en la última década del siglo XIX, alentados por la necesidad de combustible de la siderurgia vasca, las medidas proteccionistas del momento y la construcción del ferrocarril La Robla - Balmaseda. Mientras la producción se centraba en las cuencas de Sabero y Ciñera, las cuencas de El Bierzo o Villablino iniciaron su desarrollo con el aumento de la demanda de carbón nacional debida al estallido de la Primera Guerra Mundial.

En 1918 se creó la empresa Minero Siderúrgica de Ponferrada, con capital vasco. Esta empresa construyó el ferrocarril minero de vía estrecha Ponferrada-Villablino que posibilitó la explotación intensiva de Villablino y la zona occidental de El Bierzo: la de Fabero-Matarrosa. Tanto en este sector occidental, como en Tremor la explotación del carbón se realiza en minifundios, estas pequeñas explotaciones, generalmente con muy poco control ambiental, por no hablar de seguridad, que se conocen como “chamizos”. En los años 80 se producen una serie de fusiones de empresas bercianas para superar una de las muchas crisis que ha pasado este sector y, en la actualidad, las empresas Unión Minera del Norte (UMINSA) y Alto Bierzo S.A., son las principales explotadoras de la actividad minera en nuestra zona de trabajo.

En general, la producción de carbón nacional ha venido condicionada por la adopción de medidas proteccionistas, ocasionalmente la calidad de este carbón y generalmente el precio del producto no sería competitivo en una economía liberalizada. Actualmente parece factible que la Unión Europea permita que se mantengan las ayudas estatales hasta 2018; a pesar de ello la disminución en la producción de carbón que, para un

periodo de quince años (1994-2008) para antracita, que es el carbón que se da en la zona de estudio, bajó de 3.512.827 t hasta 1.605.542 t. En cuanto al valor de producción ha disminuido desde 422.165.543 euros hasta 213,572.179 euros (García Álvarez y del Riego Celada 2010).

En el año 1996 el número de explotaciones incluidas en la base de datos del Instituto Geológico y Minero de España era de 179 con una producción de 2,96 Mt vendibles de antracita. En dicho año se extrajo el 44% de la producción regional de carbón sólo en esta comarca de El Bierzo, ocupando el primer lugar en reservas con un 33% de recursos muy probables de la Comunidad de Castilla y León (SIEMCALSA, 2009).

Épocas de muestreo.

Las campañas de campo se iniciaron en noviembre de 2006, la campaña de otoño, y el 11 de junio de 2007 la de primavera. Durante las campañas no hubo precipitaciones importantes en la zona de muestreo, aunque en la víspera de la campaña de primavera se registraron 12,5 mm en la estación de Villameca.

Los puntos de muestreo en El Bierzo.

Independientemente de lo que se tenga que tratar sobre el escenario de El Bierzo y lo que se pueda profundizar sobre los puntos de muestreo y las campañas de campo, si que se debe hacer una clasificación de estos puntos con arreglo a su uso/estado. Esta clasificación está basada en trabajos previos (Mejuto *et al.* 2008) realizados en el Bierzo, y en datos propios, tanto de la propia observación en campo, como tras los primeros análisis de resultados de este trabajo.

La clasificación de los puntos de muestreo se realiza como se indica en la tabla 6.

Tabla 6.- Puntos de muestreo en El Bierzo.

Denominación según uso/estado	Puntos de muestreo	Observaciones
No alterado (NA)	B1 y B2	Son las parcelas B1, un brezal que sufrió un incendio, pero que no está alterado por la actividad minera, y el robledal B2
Pastos y riberas (PAR)	B4, B8, B7 y B5	<p>Algunas de estos puntos de muestreo están afectados por las actividades mineras:</p> <p>B4 pastizal de ribera rodeado de instalaciones mineras.</p> <p>B5, ribera flanqueada por escombreras y aguas abajo de una mina abandonada y de depósitos de carbón</p> <p>B7, pastizal de ribera con la carretera pavimentada con caliza en su parte superior.</p> <p>B8, pastizal sin afectación por actividad minera.</p>
Escombreras (ES)	B3, B6, B9, B10 y B11	<p>Escombreras con diferente estado de recuperación. Así B3 muy poco recuperada, B6 que en realidad es causada por el deslizamiento de una escombrera situada arriba de la zona de robles en la misma ladera y las escombreras de fuera de la zona del Rodrigatos, B9 con cubierta del 70% de retamas y gramíneas en la época en la que se estuvo trabajando. B10, con revegetación de gramíneas y B11 con cubierta vegetal del 70 al 80% con participación de labiadas, retamas y gramíneas.</p>

Las coordenadas de los puntos de muestreo están referenciadas en el Huso 30.

Punto de muestreo NA(B1).

Coordenadas: Latitud N 4738499

Longitud E 234288

Altitud: 1.440 m

Es el punto de muestreo situado a mayor altitud. Se localiza en un loma de poca pendiente, cubierta por brezales (Fig. 21) y con evidencias de haber sufrido un incendio.



Figura 21.- Aspecto de la zona en las proximidades del punto de muestreo NA(B1).

Punto de muestreo NA(B2).

Coordenadas: Latitud N 4738748

Longitud E 234635

Altitud: 1.400 m

El punto de muestreo esta situado en un robledal (*Quercus pirenaica*) mayor de 30 años situado a media ladera en una zona de pendiente fuerte (Fig. 22).



Figura 22.- Toma de muestras en el punto NA(B2).

Punto de muestreo ES(B3).

Coordenadas: Latitud N 47376870

Longitud E 235091

Altitud: 1.260 m

El punto de muestreo esta situado en una escombrera muy reciente, con muy poca cubierta vegetal, muy pedregosa. En muestreos posteriores a los citados en este trabajo se había vertido nuevo material sobre esta escombrera (Fig. 23).



Figura 23.- Punto de muestreo en ES(B3). A la derecha se observa la mina Don José.

Punto de muestreo PAR(B4).

Coordenadas: Latitud N 4737509

Longitud E 234849

Altitud: 1.150 m

Es un pastizal en la zona de ribera, con importante cubierta vegetal, poca pendiente y muy próximo al Río Rodrigatos y con un buen aspecto de conservación a pesar de estar rodeado por estructuras mineras en activo, tanto escombreras como depósitos de carbón y otras instalaciones mineras correspondientes a la Mina “Don José” (Figs. 24 y 25).



Figuras 24 y 25.- Aspecto de las proximidades al punto de muestreo PAR(B4),

Punto de muestreo PAR(B5).

Coordenadas: Latitud N 4735950

Longitud E 234390

Altitud: 1.060 m

El punto de muestreo se localiza en la orilla del Río Rodrigatos, con muy poca pendiente, aguas abajo de una bocamina (Fig. 26) y al pie de una escombrera y enfrente de otra escombrera que se encuentra al otro lado del río (Fig. 27).



Figuras 26 y 27.- Aspecto de las proximidades al punto de muestreo PAR(B.5). En la figura 26, a la izquierda, vista general de la zona de muestreo y en la figura 27, a la derecha, localización del punto de muestreo.

Punto de muestreo ES(B6).

Coordenadas: Latitud N 4735438

Longitud E 233884

Altitud: 1.030 m

El punto de muestreo se localiza en un robledal con mucha pendiente cuya superficie está compuesta por derrubios de las escombreras situadas más arriba de esa zona (Fig. 28).



Figura 28.- Punto de muestreo ES(B6).

Punto de muestreo PAR(B7).

Coordenadas: Latitud N 4734505

Longitud E 234169

Altitud: 980 m

Es un pastizal en la orilla del Río Rodrigatos, la zona de muestreo tiene baja pendiente, pero la zona colindante con la pista forestal, en la parte alta de la parcela, tiene fuerte pendiente. En el punto de muestreo se aprecian encharcamientos frecuentes, además del uso del terreno como pasto con excrementos de las vacas (Fig.s 29 y 30).



Figuras 29 y 30.- Zona de muestreo PAR(B7). A la izquierda vista general del pastizal y a la derecha momento del muestreo mientras un camión pasa por la pista forestal.

Punto de muestreo PAR(B8).

Coordenadas: Latitud N 4734321

Longitud E 234265

Altitud: 970 m

Es un pastizal con pendiente muy suave, situado justo por encima de la pista forestal, con uso ganadero, por lo que es frecuente encontrar excrementos del ganado (Fig. 31).



Figura 31.- Momento del muestreo en PAR(B8).

Punto de muestreo ES(B.9).

Coordenadas: Latitud N 4737497

Longitud E 237266

Altitud: 1.100 m

Es una escombrera situada en el término municipal de Tremor de Arriba. El punto de muestreo esta situado a media ladera en una zona de fuerte pendiente. Hay revegetación de la escombrera con buenos ejemplares de retama (Fig. 32). Posteriormente a los muestreos las retamas fueron arrancadas para aumentar la superficie de pasto.



Figura 32.- Muestreo en ES(B9). Al fondo, abajo, Tremor de Arriba.

Punto de muestreo ES(B10).

Coordenadas: Latitud N 4732470

Longitud E 230051

Altitud: 1.040 m

Es una escombrera situada en la pedanía de Boeza (municipio de Folgoso de la Ribera). La pendiente es suave y el punto de muestreo se halla en la ladera. Hay revegetación con gramíneas y se observan restos de un incendio leve. En otros puntos de la escombrera se observan huellas de laboreo, incluyendo plantones de pino (Fig. 33).



Figura 33.- Muestreo en ES(B10).

Punto de muestreo ES(B11).

Coordenadas: Latitud N 4733295

Longitud E 229855

Altitud: 990 m

Es una escombrera situada en el término municipal de Boeza. El punto de muestreo está situado en la parte alta de la escombrera en una zona de pendiente muy suave, con una cubierta vegetal importante, más del 70% y con abundantes tomillos, lavandas y algún ejemplar aislado de roble (Fig. 34).



Figura 34.- Muestreo en ES(B11).

III.2.- Metodología analítica.

III.2.1.- Determinaciones físicas.

Humedad “in situ”.

El contenido en humedad de la muestra tamizada por 2 mm se establece por gravimetría a partir de la diferencia de peso entre la muestra húmeda y la muestra seca, tras someterse a 105°C durante 24h.

Capacidad máxima de agua.

La capacidad máxima de agua, representada por WHC se ha determinado por el procedimiento del cilindro, descrito por Guitián-Ojea (Guitián-Ojea y Carballas 1976), modificado para su uso en el Laboratorio de Suelos del CIEMAT (Díaz *et al.* 2002a), aceptando el empleo de muestra fresca tamizada por 2 mm.

Densidad aparente.

La densidad aparente se determinó mediante la extracción de una muestra de suelo “in situ” con cilindros de volumen conocido, una vez obtenida la muestra se mantiene en estufa hasta peso constante, se obtiene la masa de suelo contenida en el volumen conocido del cilindro y se calcula la densidad aparente.

Análisis granulométrico.

El análisis textural de la fracción inferior a 2 mm se realiza por el método del hidrómetro de Bouyoucos, siguiendo la Norma Española UNE 103:102 (AENOR 1995).

III.2.2.- Determinaciones físico-químicas.

Conductividad eléctrica.

La conductividad eléctrica del suelo se determinó en solución con agua destilada 1:2,5, con un equipo Crison microCM2200 con compensación automática de temperatura. Los valores de referencia con los que se comparan los resultados de conductividad eléctrica son los de la clasificación USDA (USDA 2011a). Como el método de referencia de USDA es la medida en pasta saturada, los valores de referencia citados en el texto se han aproximado a los valores que serían la referencia si el método usado hubiera sido el

de solución del suelo en agua destilada (Berryman *et al.* 1991), dividiendo los valores de referencia por 3,2 (Talsma 1968; Loveday *et al.* 1972) en (Berryman *et al.* 1991).

pH en H₂O.

El pH del suelo se determinó en una suspensión de suelo 1:2,5, tras calibrar el equipo Orion 525, que dispone de compensación de temperatura.

III.2.3.- Determinaciones químicas.

Carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}) y Materia orgánica.

El carbono orgánico fácilmente oxidable se determinó mediante el método de oxidación húmeda (Walkley y Black 1934), básicamente, a una muestra de 0,5 g de suelo seco y molido, depositada en un matraz de 250 cc, se añaden 10 ml de dicromato potásico 1N (K₂Cr₂O₇), en medio ácido al añadir 20 ml de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄), agitando lentamente y dejando reposar para completar la oxidación de la materia orgánica, posteriormente la mezcla se diluyó enrasando a 200 ml de agua destilada y la oxidación se detuvo añadiendo 10 ml de ácido fosfórico (H₃PO₄), posteriormente se usó una retrovaloración con sal de Mörh (Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O usando como indicador difenilamina.

El carbono orgánico fácilmente oxidable se calcula, como porcentaje de la masa de materia seca, con la siguiente fórmula:

$$CO_{FO} = ((V_{\text{blanco}} - V_{\text{muestra}}) * 0,003 * 100 * N_{\text{sal ferrosa}}) / \text{masa de suelo}$$

Donde:

V_{blanco}: es el volumen de sal usado en la retrovaloración del blanco

V_{muestra}: es el volumen de sal usado en la retrovaloración de la muestra

0,003: factor de conversión de meq a mg C

100: factor de conversión a porcentaje

N_{sal ferrosa}: Normalidad de la sal ferrosa, en nuestro laboratorio 0,5

Masa de suelo: masa de suelo utilizada en el ensayo.

Factor de recuperación: los autores del método (Walkley y Black 1934) indicaron que no todo el carbono orgánico fácilmente oxidable de la muestra se oxida y calcularon que la eficiencia sería el 75%, aceptando, de forma general (Nelson y Sommers 1996), un factor de 1,3 aplicado sobre el carbono orgánico fácilmente oxidable que se obtenía tras la valoración. No obstante la oxidación será más o menos completa dependiendo del tipo de materia orgánica, su grado de condensación –aromaticidad- que se encuentre en los suelos, habiéndose utilizado factores entre 1,03 y 1,41 (Nelson y Sommers 1996). A lo largo de este trabajo se apreciará la diferencia en cuanto a carbono orgánico oxidable en los dos escenarios de estudio, por lo que aplicar un único factor de corrección en ambos escenarios sería cometer errores de principio. Por ello se ha usado un factor de 1 para las muestras de Almadén y un factor de 1,29 para las muestras de El Bierzo.

En el caso de Almadén se ha tenido que proceder con sumo cuidado para evitar la sobrevaloración; esto en principio nos da idea de que la mayor parte del carbono orgánico del suelo es fácilmente oxidable, por lo que se aplica el factor de recuperación 1. Adicionalmente, ha habido ocasiones en que muestras originalmente valoradas con bureta manual han tenido que ser repetidas con bureta automática. Se ha comprobado la ausencia de artefactos, p.ej. producidos por los cloruros, o la oxidación del hierro, ambas causas pueden quedar descartadas al haber seguido el método contrastando las muestras sensibles de tener cloruros con AgSO_4 , y en todo caso el tratamiento con fosfórico debería evitar la sobreestimación por hierro.

Los datos de carbono orgánico oxidable se asumen convertibles en valores de contenido en materia orgánica del suelo, aplicando el llamado factor de Van Bemelen, 1,724, Este valor también es empírico y por lo tanto discutible (Pribyl 2010), habida cuenta de que el resultado de aplicar este factor nos iba a dar un valor que iba a ser una correlación lineal con el del carbono orgánico oxidable y que, por ello interfiere en el análisis de resultados, se ha optado por indicar la posibilidad de conversión de CO_{FO} en materia orgánica pero no presentar los valores resultantes.

Carbono total, carbono inorgánico, carbono orgánico total (COT) –por diferencia- y nitrógeno total.

La muestra, una vez seca y molida, se envió para su análisis a los laboratorios de la Unidad de Espectrometría de Masas y Aplicaciones Geoquímicas de la División de

Química del CIEMAT, donde realizaron el análisis determinando el carbono total (CT) por el método de combustión automática seca a 1000°C. El carbono inorgánico total se estimó como la diferencia del carbono total con el carbono obtenido tras la combustión a 500°C; finalmente el carbono orgánico total, COT, se estimó por diferencia entre el carbono total y el carbono inorgánico. El análisis de nitrógeno total (NT) se realizó con el analizador LECO TRUSPEC (LECO Corp., St. Joseph, Mi) y el carbono con equipo TOC-V CSH de Shimadzu (Shimadzu Scientific Instruments, Kyoto, Japón), éste último con el módulo de sólidos SSM-500.

El carbono orgánico total comprende las distintas fracciones de carbono orgánico del suelo, esto es, el fácilmente oxidable y el recalcitrante; adicionalmente, como ocurre en El Bierzo, podemos encontrar en algunos puntos de muestreo una fracción del carbono orgánico total que se ha descrito como geogénico o procedente del carbón (Mejuto Mendieta 2011).

Carbono extraíble con agua.

La extracción se realizó siguiendo el método propuesto por Ghani (Ghani *et al.* 2003). El Carbono Orgánico de las extracciones se determinó como NPOC en un analizador de carbono orgánico total (TOC) modelo TOC –VCSH. (SHIMADZU, Shimadzu Scientific Instruments, Kyoto, Japan).

Carbonatos.

El contenido en carbonatos se ha determinado a partir del método gasométrico, utilizando un calcímetro de Bernard, según la norma UNE 103.200 (AENOR 1993).

Cationes solubles (Ca, K, Mg, Na).

En las muestras de suelo de El Bierzo se determinaron los cationes solubles en agua, concretamente, Na, K, Mg y Ca. Se pesaron 0,5 g de suelo suspendidos en 20 ml de agua milliQ sometidos a agitación orbital 16 h y centrifugados 5000 rpm 10 min; el sobrenadante se filtró, se ajustó a $\text{pH} \leq 2$ con ácido nítrico y se analizó en el Laboratorio de Análisis Elemental y Térmico, en la unidad de Espectrometría de Masas del Departamento de Tecnología del CIEMAT, mediante cromatografía iónica. Se ha utilizado para el análisis un cromatógrafo iónico DIONEX 4500i con detector de conductividad y espectrofotométrico.

Metales pesados (Pb, Zn, Cd y Ni).

Se preparó la muestra siguiendo el método EPA 3052 (EPA 1996), El contenido en estos elementos se determinó mediante espectroscopia de emisión con fuente de plasma de acoplamiento inducido (ICP-OES). El equipo con el que se realizaron los análisis es el modelo 735-ES-Series de Varian (Varian, Inc. Corporate Headquarters). Se trata de un ICP simultáneo de configuración radial. Incorpora un policromador Echelle purgado, sin partes móviles, con red de difracción y prisma dispersador capaz de cubrir un rango espectral de 167 hasta 785 nm y un detector de estado sólido tipo CCD con tecnología de Mapas de Imagen y al menos 70.000 puntos activos (pixels) que permite cubrir todas las longitudes de onda del rango de trabajo simultáneamente.

Mercurio.

Las muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente y la fracción menor de 2 mm, se homogeneizó y molió en mortero de ágata para obtener partículas de tamaño menor de 420 μm . Las muestras se analizaron para obtener el contenido de mercurio usando un Analizador de Mercurio Avanzado (AMA-254, de la Compañía LECO). Se analizaron cinco réplicas de cada muestra. El control de calidad de las medidas de mercurio en las muestras se hizo analizando patrones sólidos (suelo, vegetal y polvo de leche) certificados por el BCR (Community Bureau of Reference actualmente llamado Standard Measurements y Testing), que garantizan una concentración conocida del elemento problema en la muestra así como una homogeneidad en el preparado de la misma, lo que permite poder realizar repeticiones exactas en su medida. Los patrones utilizados fueron: SRM 2709 (Suelo agrícola de San Joaquín, $1.40 \pm 0.08 \text{ mg Hg kg}^{-1}$ suelo), BCR-CRM 62 (hojas de olivo $0.28 \pm 0.02 \text{ mg Hg kg}^{-1}$), BCR-CRM 151 (leche en polvo descremada, $0.101 \pm 0.010 \text{ mg Hg kg}^{-1}$) BCR-CRM 150 (leche en polvo descremada, $0.0094 \pm 0.0017 \text{ mg Hg kg}^{-1}$). El valor medio determinado en 10 medidas usando este equipo fue: $1.50 \pm 0.04 \text{ mg Hg kg}^{-1}$, $0.279 \pm 0.003 \text{ mg Hg kg}^{-1}$, $0.100 \pm 0.001 \text{ mg Hg kg}^{-1}$ y $0.0100 \pm 0.0002 \text{ mg Hg kg}^{-1}$, respectivamente. No se detectaron diferencias entre los valores certificados y los experimentales con un nivel de confianza del 95 %, por lo que el método se ha considerado preciso para la determinación de mercurio total. Cuando el valor de mercurio total excedía el valor máximo detectable por el equipo, lo que ocurrió con las muestras de las parcelas 5 y 9 de Almadén, se llevó a cabo una

digestión ácida según el método EPA Method 3052 de 1995, usando 5 ml de HF, 5 ml de HNO₃ y 5 ml de HCl.

III.2.4.- Determinaciones respirométricas.

Respirometría.

La respirometría de un suelo determina la producción de dióxido de carbono y/o el consumo de oxígeno bien en laboratorio a partir de una muestra o mediante una medida “in situ”. En este trabajo, las determinaciones respirométricas se han realizado en laboratorio sobre muestras de suelo tamizadas en húmedo por debajo de 2 mm.

Respirómetro.

Se ha utilizado el respirómetro Micro-Oxymax de Columbus Instruments (Columbus, Ohio, USA). Este equipo, en la configuración que se ha utilizado consta de dos cámaras de expansión de diez canales cada una. A través de ellos se toma la muestra de aire correspondiente y se envía; ya por un único conducto, a la cámara de bombas donde se pasa por un material desecante, SO₄Ca, una vez seca, la muestra es bombeada a los sensores. El sensor de Oxígeno es un sensor paramagnético (Paramax-101) que mide en el rango 0-21%, repetibilidad 0,001% O₂, linealidad $\pm 0,1\%$ O₂. El sensor de CO₂ es infrarrojo, tiene un rango de medida de 0-1% con un rango de error de $\pm 2\%$ del valor medido. Una vez analizados el oxígeno y el dióxido de carbono, la muestra de aire es devuelta al frasco de reacción a través de la cámara de bombas.

El equipo se calibra con mezclas conocidas de gases, nitrógeno molecular puro para el valor 0 de oxígeno y dióxido de carbono y otra mezcla conocidas con 21,5 % de oxígeno y 0,8% de dióxido de carbono. Las calibraciones se realizaban semanalmente o tras bloques definidos de ensayos.

Previamente a la realización de cada determinación se realizan los ensayos de prueba correspondientes para comprobar el funcionamiento de los sensores y la estanqueidad de los circuitos (Díaz Puente *et al.* 2002b).

Los ensayos realizados requieren un rango muy estrecho de temperatura, $22\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, esto se consigue instalando las muestras en su frasco correspondiente en un baño

termostatzado. En este baño la temperatura se mantiene estable con un doble control de temperatura, por un lado la propia resistencia del baño y por otro un sistema de los denominados “dedo frío” que actúa cuando la temperatura ambiente es superior a la temperatura de referencia.

Estimación de la masa microbiana por respirometría inducida por sustrato.

Este método se basa en la relación que Anderson y Domsch (Anderson y Domsch 1978) establecieron entre un valor de tasa de producción de dióxido de carbono, generado al mineralizar la muestra de suelo una cantidad de glucosa, cuya concentración ha sido previamente optimizada.

La fórmula que obtuvieron es:

$$x = 40.4 y + 0,37$$

Donde x es el valor de masa microbiana en $\text{mg } C_{\text{mic}} \text{ kg}^{-1}$ suelo, e

y es el valor de MIRR (maximum initial respiratory response) en $\text{ml CO}_2 \text{ kg suelo}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

En el ensayo de optimización se prueba con cuatro concentraciones de glucosa, 0, 3, 6 y 9 g de glucosa kg suelo^{-1} , este ensayo se realiza con una sola muestra por concentración, tal como indica la norma (AENOR 1995). Con la concentración que maximiza la tasa de producción de dióxido de carbono se realiza el ensayo para estimar la masa microbiana. En este ensayo, las muestras de suelo que previamente se han incubado durante 24h a 22°C, se acondicionan con la cantidad de glucosa adecuada a la concentración óptima. El contenido en humedad se ajusta a valores de WHC que permiten una actividad microbiana adecuada para esta estimación, entre el 40 y 60% de la WHC (Díaz *et al.* 2005), para este trabajo en el entorno del 60% de la WHC. Si el volumen de agua a añadir es suficiente para diluir la glucosa, ésta se añade disuelta en agua, en caso contrario la glucosa se añade directamente a la muestra de suelo previamente molida muy fina que se distribuye de manera uniforme por la muestra.

La medida respirométrica se realiza, por triplicado, sobre las muestras incubadas y acondicionadas con glucosa y agua. Los frascos conteniendo las muestras están debidamente conectados al respirómetro mediante tubería de nailon de 1/8” y se comprueba la estanqueidad del sistema, los frascos están parcialmente sumergidos en el

baño termostatzado cuya temperatura se mantiene a $22\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y se realiza la medida aproximadamente cada hora, obteniendo así una cinética de producción de dióxido de carbono. De entre los valores obtenidos se selecciona el valor MIRR –que suele coincidir con el valor más bajo de la cinética y que además se obtiene generalmente en los tres primeros valores-. Esta determinación se realiza por triplicado y se incluye una muestra adicional –sin glucosa- como blanco.

Valores máximos en las Cinéticas.

Se ha tomado el valor máximo de producción de dióxido de carbono obtenido en el ensayo respirométrico correspondiente a la estimación de masa microbiana y se puede comparar con los valores de referencia:

Tasa de producción de dióxido de carbono: $\geq 0,5 \text{ mg CO}_2 \text{ h}^{-1} 100 \text{ g suelo seco}^{-1}$.

Tasa de consumo de oxígeno: $\geq 0,3 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1} 100 \text{ g suelo seco}^{-1}$.

Estos valores se establecieron por el Comité *ad hoc* “Methods for Toxicological/Ecotoxicological Assessment of Soil” (Dott 1995), en el que sugieren que los valores de inhibición de respiración se deben dar exclusivamente por los condicionantes ecotoxicológicos de los contaminantes y que el suelo en caso necesario debe ser acondicionado tanto con nutrientes, como con agua y con materia orgánica.

Los valores anteriores –en tasa diaria- son los valores mínimos que se indican para que el suelo tenga usos como zona verde, parque o espacio de recreo (Eisentraeger *et al.* 2000).

Respirometría basal.

Siguiendo parcialmente el procedimiento indicado por Marguesin (Margesin *et al.* 2000), medimos la respirometría basal de un suelo considerando este valor como la tasa horaria media de producción de dióxido de carbono obtenida entre las horas 30 y 40 de incubación, a $22\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, de las muestras de suelo acondicionadas al 60 de su WHC. Las muestras que se ensayan son de suelo tamizado en húmedo por malla de 2 mm. Los ensayos se realizan por triplicado y el valor obtenido es la media de los valores correspondientes a las tres cámaras durante las horas establecidas para el ensayo.

Variabes relacionales asociadas a la respirometría.

Cociente metabólico ($q\text{CO}_2$).

Se ha calculado relacionando los valores de C-CO_2 obtenidos a partir de los ensayos de respirometría basal con los datos de masa microbiana por respirometría inducida por substrato ($\text{C}_{\text{mic}}(\text{SIR})$).

Relación $\text{C}_{\text{mic}}/\text{C}_{\text{org}}$.

Se ha calculado a partir del valor de $\text{C}_{\text{mic}}(\text{SIR})$ y, para el C_{org} se ha considerado:

- a) En Almadén: El valor del Carbono orgánico total (COT), ya que este valor ha sido el usado de forma más común en suelos agrícolas o forestales, p.ej. (Anderson y Domsch 1989).
- b) En El Bierzo: Debido a la aportación al COT del carbono del carbón se ha considerado que usar ese valor implicaría un sesgo que proporcionaría valores bajos, lo que enmascararía la aportación del carbono microbiano al carbono orgánico del suelo. Por ello se ha optado por utilizar el valor del CO_{FO} . Esta situación se ha dado en otros trabajos en escombreras de carbón (Insam y Domsch 1988), buscando también soluciones alternativas al uso del valor de carbono orgánico total.

III.2.5.- Ensayos microbiológicos no respirométricos.

Masa Microbiana (FE).

El carbono de la masa microbiana del suelo también se determinó por el método fumigación–extracción (FE) (Vance *et al.* 1987). Los procedimientos biocida y de extracción son los que describieron los autores. El carbono orgánico en los extractos se analiza con el analizador TOC-V CSH de Shimadzu (Shimadzu Scientific Instruments, Kyoto, Japón).

La masa microbiana se calculó según la fórmula:

$$\text{Masa microbiana} = \text{EC}/k_{\text{EC}}$$

Donde:

EC es la diferencia entre el C extraído en muestras fumigadas y el extraído en muestras sin fumigar.

$k_{\text{EC}} = 0.45$ es la constante de extracción para corregir el carbono no extraído de origen microbiano.

Cultivos bacterianos.

En todos los casos se procedió a suspender 5 g de suelo en 50 ml de solución Ringer, a partir del cual se prepara el banco de diluciones.

Bacterias heterótrofas totales (BHT).

Para este trabajo se utilizó la siembra en medio líquido, partiendo del banco de diluciones en solución Ringer (10^{-5} a 10^{-9}), se inocularon en tubos conteniendo 9 ml de medio TSB, tres por dilución, sellados e incubados a 30°C, procediendo al conteo por el método del número más probable (NMP) (Rodríguez Gallego *et al.* 2002).

Actinomicetos (ACT).

Se realiza un banco de diluciones (10^{-1} a 10^{-4}), 100 µl de cada dilución se siembran, por triplicado, en placas Petri que contienen, esterilizado y solidificado, el medio de cultivo utilizado, que contiene: Glicerina, 10 g; L-Asn, 1 g; PO_4HK_2 , Agar, 15 g; solución de oligoelementos 1 ml, enrasado a 1 L con agua mili-Q (Pochon y Tardieux 1962). Una vez sembradas las placas se conservan en estufa de incubación a 30°C y periódicamente se procede al recuento de colonias, generalmente durante 3 semanas.

Bacterias reductoras del sulfato (BRS).

Se realiza un banco de diluciones (10^{-1} a 10^{-4}), 100 μ l de cada dilución se inoculan, por triplicado, en tubos de cultivo con medio líquido. Básicamente, este medio contiene lactato sódico como fuente de carbono y sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) como fuente para ser reducida por las BRS, tornando a negro una vez reducido para ser considerado como positivo. El potencial redox adecuado se consigue con Na_2S o con un compuesto tiólico, como tioglicolato de sodio o cisteína (Atlas 1993). Los tubos se incuban a temperatura ambiente y oscuridad, en jarra de anaerobios. El recuento se realiza mediante el método del número más probable (NMP).

III.2.6.- Análisis de datos.

Los análisis estadísticos se han realizado con SPSS para windows v. 11.5.1. SPSS Inc. Licencia 90035778 y STATISTICA v. 9.0 de StatSoft Inc. 2009.

Sobre el desarrollo de la metodología de análisis de datos utilizada se presenta el “Anexo I. Estadística” cuyo objetivo es incluir aquellos datos estadísticos relevantes para profundizar o aclarar los procedimientos o datos estadísticos presentados en el capítulo de resultados.

IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

IV.1.- Características físicas y físico-químicas de los suelos de Almadén.

En este apartado se incluyen los resultados correspondientes a las siguientes variables:

- Densidad Aparente
- Análisis granulométrico
- Máxima capacidad de retención de agua
- Humedad “in situ”.
- pH en agua
- Conductividad.

Densidad aparente.

Los valores obtenidos para la densidad aparente en el horizonte superficial oscilan entre 1,1 y 1,6 g cm^{-3} . La mayoría de los valores está por encima de 1,2 correspondiendo a valores propios de horizontes arcillosos con buena estructura y horizontes arenosos.

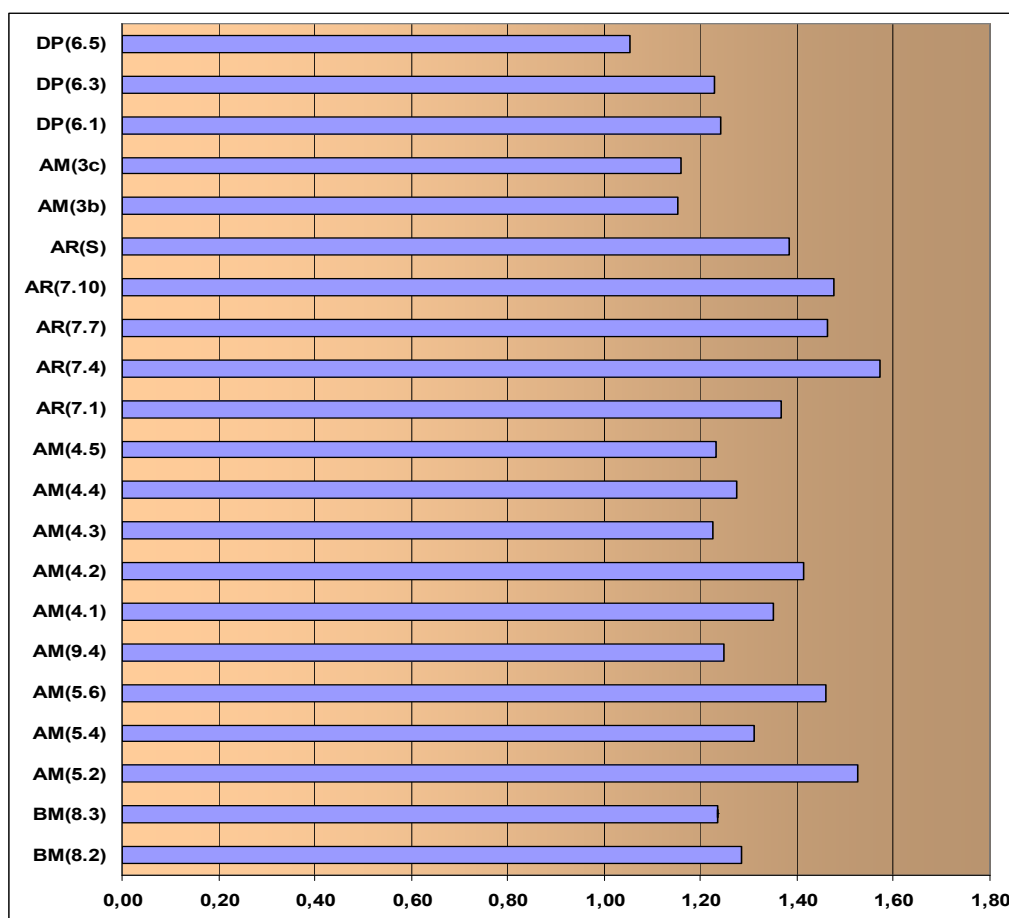


Figura 35.- Densidad aparente. (g cm^{-3}).

Análisis granulométrico.

Los resultados de los análisis granulométricos, realizados sobre la fracción menor de 2 mm, se recogen en los gráficos de las Figuras 36 y 37. Son suelos que presentan porcentajes de arena muy superiores al 50%, lo que implica que el suelo presentará propiedades relacionadas con esa fracción. Aún más, en 17 de las 42 muestras analizadas el porcentaje de arena es mayor del 70%, clasificándose en estos casos dentro de la clase textural arenosa-franca.

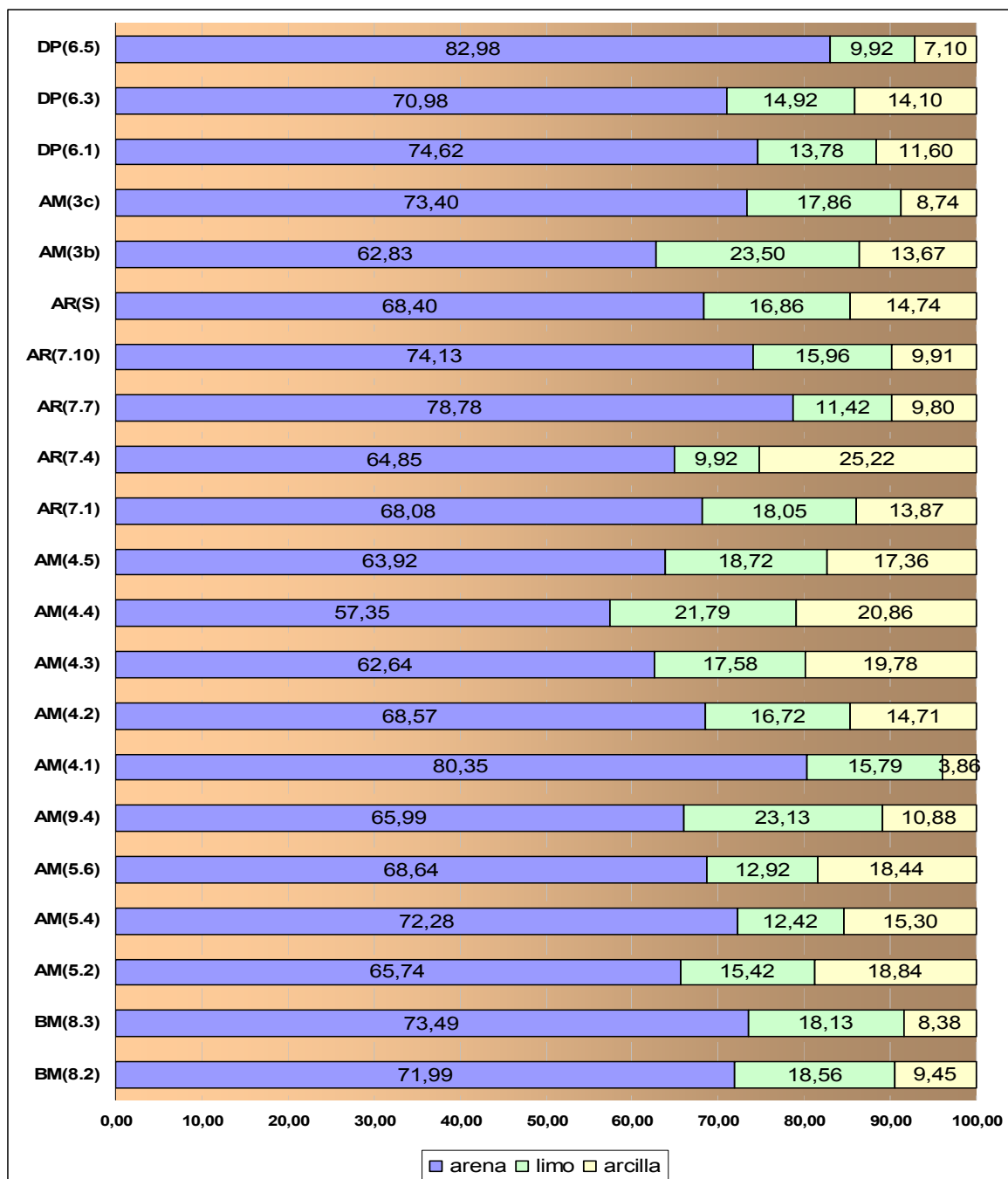


Figura 36.- Análisis granulométrico, muestras de Almadén otoño de 2006 y otoño de 2007.

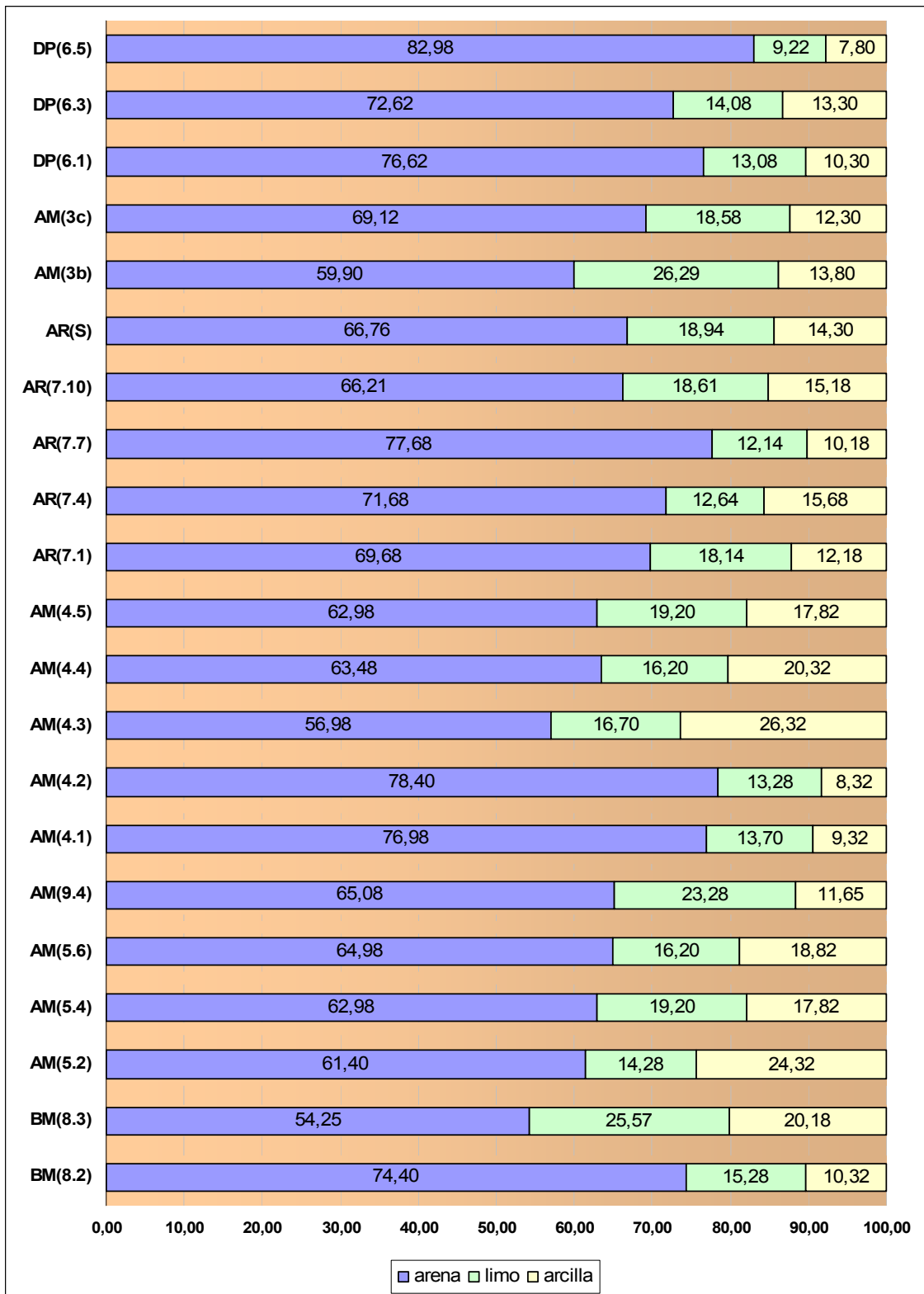


Figura 37.- Análisis granulométrico, muestras de Almadén primavera de 2007 y primavera de 2008.

En las Figuras 38 y 39 se representan las clases texturales en las que se incluyen las muestras según su granulometría, utilizando para ello el triángulo de texturas del

USDA (USA 2011b). Los puntos de muestreo se han reseñado según la relación que aparece en la tabla 7.

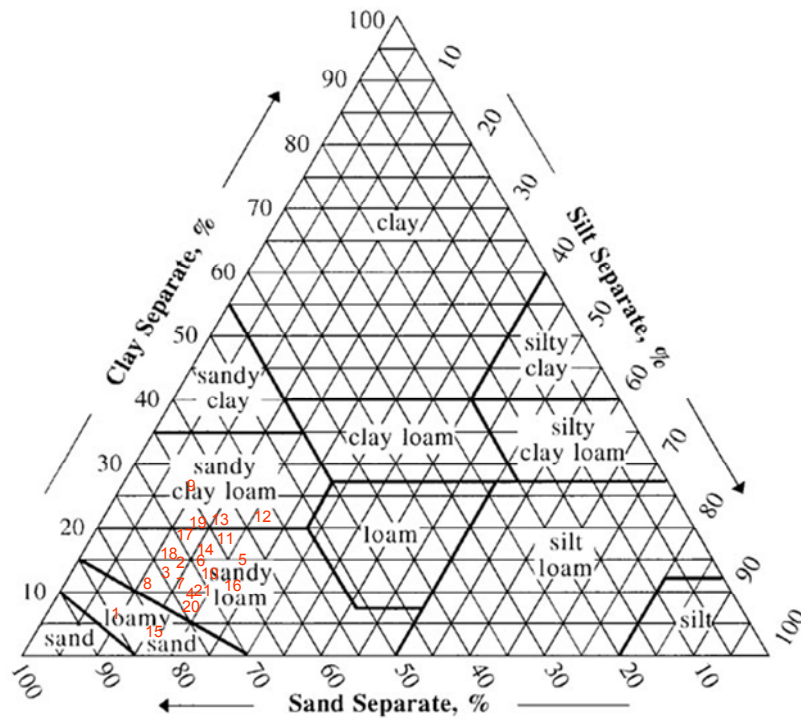


Figura 38.- Clasificación textural de las muestras de Almadén, otoño de 2006 y otoño de 2007.

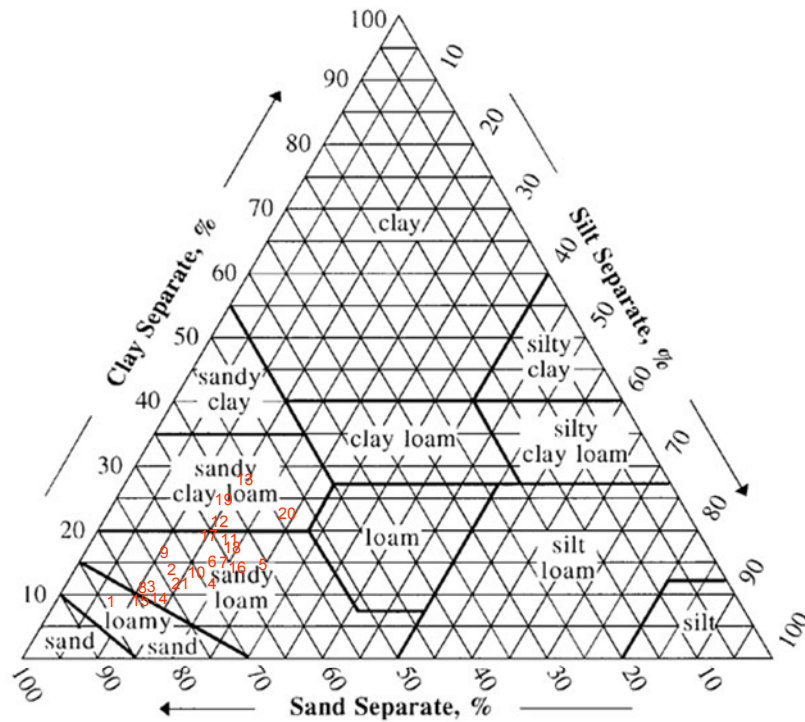


Figura 39.- Clasificación textural de las muestras de Almadén, primavera de 2007 y primavera de 2008.

Tabla 7.- puntos de muestreo reseñados en los triángulos de texturas.

Número en el triángulo	Punto de muestreo	Código de uso
1	DP(6.5)	
2	DP(6.3)	DP = Dehesa de pasto
3	DP(6.1)	
4	AM(3c)	
5	AM(3b)	AM = Afectado por metalurgia
6	AR(S)	
7	AR(7.10)	AR = prácticas de laboreo convencional
8	AR(7.7)	
9	AR(7.4)	
10	AR(7.1)	
11	AM(4.5)	
12	AM(4.4)	
13	AM(4.3)	
14	AM(4.2)	AM = Afectado por metalurgia
15	AM(4.1)	
16	AM(9.4)	
17	AM(5.6)	
18	AM(5.4)	
19	AM(5,2)	
20	BM(8.3)	
21	BM(8.2)	mediterráneo

Los valores obtenidos se agrupan mayoritariamente en la clase textural franco-arenosa, o con valores que se incluyen dentro de clases texturales próximas, como franco-arcillo-arenosa o arenosa franca. Sólo hay una muestra en la que varía la clase textural según la época del muestreo, la que corresponde al punto de muestreo BM(8.3). Esta muestra presenta un valor de la fracción arena muy diferente en el muestreo realizado en la primavera del 2007 con respecto a la recogida en otoño de 2006. La diferencia podría explicarse por la ubicación del punto de muestreo, situado en una fuerte pendiente, lo

que puede dar lugar a grandes variaciones en la composición granulométrica, debido a una movilización de los materiales inducida por los fenómenos de erosión.

Capacidad máxima de agua.

La capacidad máxima de retención de agua (WHC) corresponde a ensayos realizados con la fracción menor de dos milímetros. Los valores obtenidos para esta variable se presentan en la gráfica siguiente (Fig. 40).

El aspecto más destacable de los resultados, es el de los valores elevados obtenidos en los puntos de muestreo DP(6.3), AM(3b) y AM(3c), mientras que los valores más bajos corresponden a las parcela AM(4). La variabilidad espacial de la WHC muestra un comportamiento paralelo al del contenido de materia orgánica, lo que se manifiesta con índices de correlación elevados y positivos con el carbono orgánico fácilmente oxidable, ($r = 0,87$).

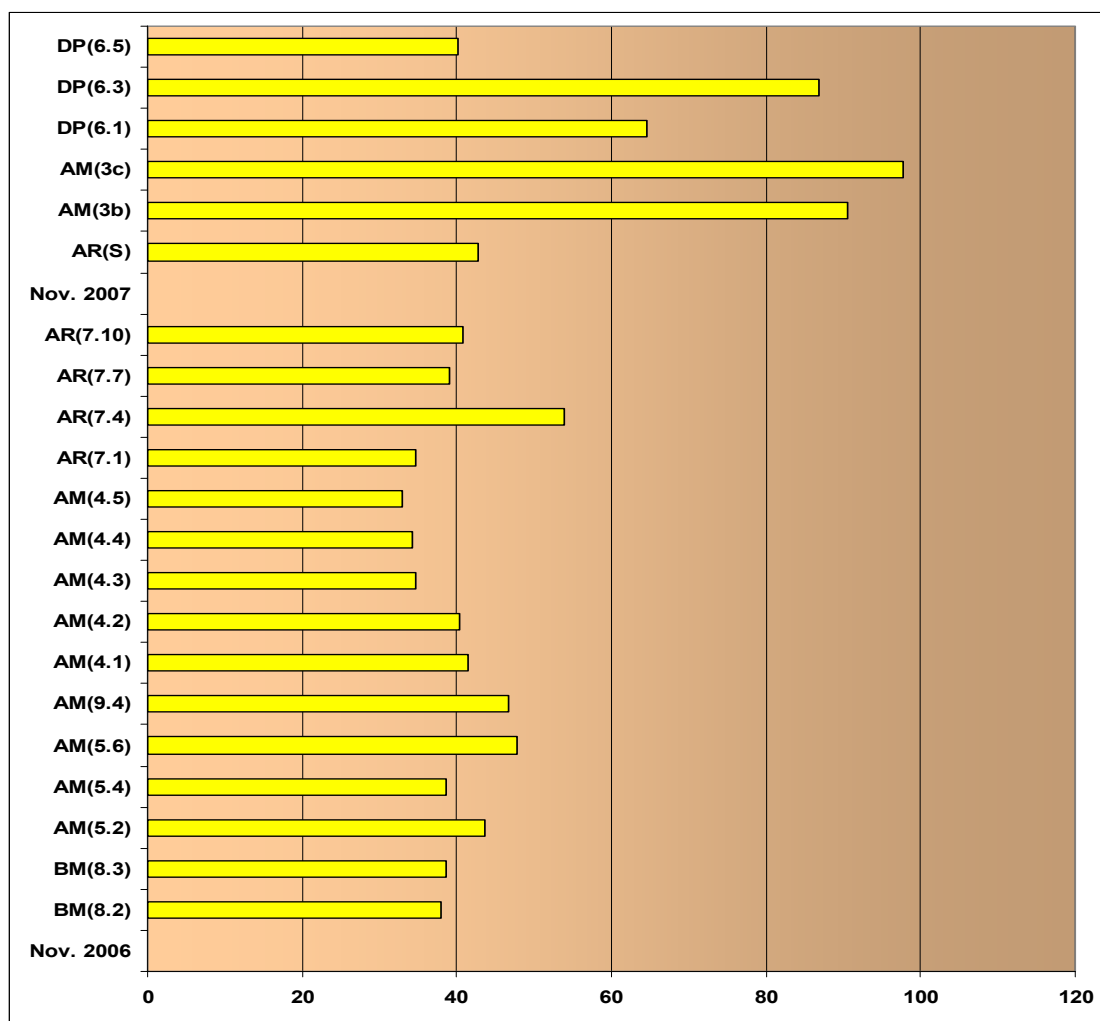


Figura 40.- Máxima capacidad de retención de agua, WHC. (ml H₂O 100g⁻¹ s.s.).

Humedad “in situ”.

El contenido en humedad de la muestra, como porcentaje de la máxima capacidad de retención de agua, se recoge en este apartado. Los datos obtenidos se incluyen en el gráfico de la Figura 41.

De los valores obtenidos en las muestras de noviembre de 2007, las parcelas DP(6) y AM(3) son las que tienen un valor más bajo de humedad, tanto tomando como referencia la máxima capacidad de agua, como si nos referimos al peso fresco de la muestra (Fig. 42). Es de destacar, además, que en esa misma campaña, la muestra con mayor humedad correspondía a la parcela AR(S), ya que había sido regada recientemente.

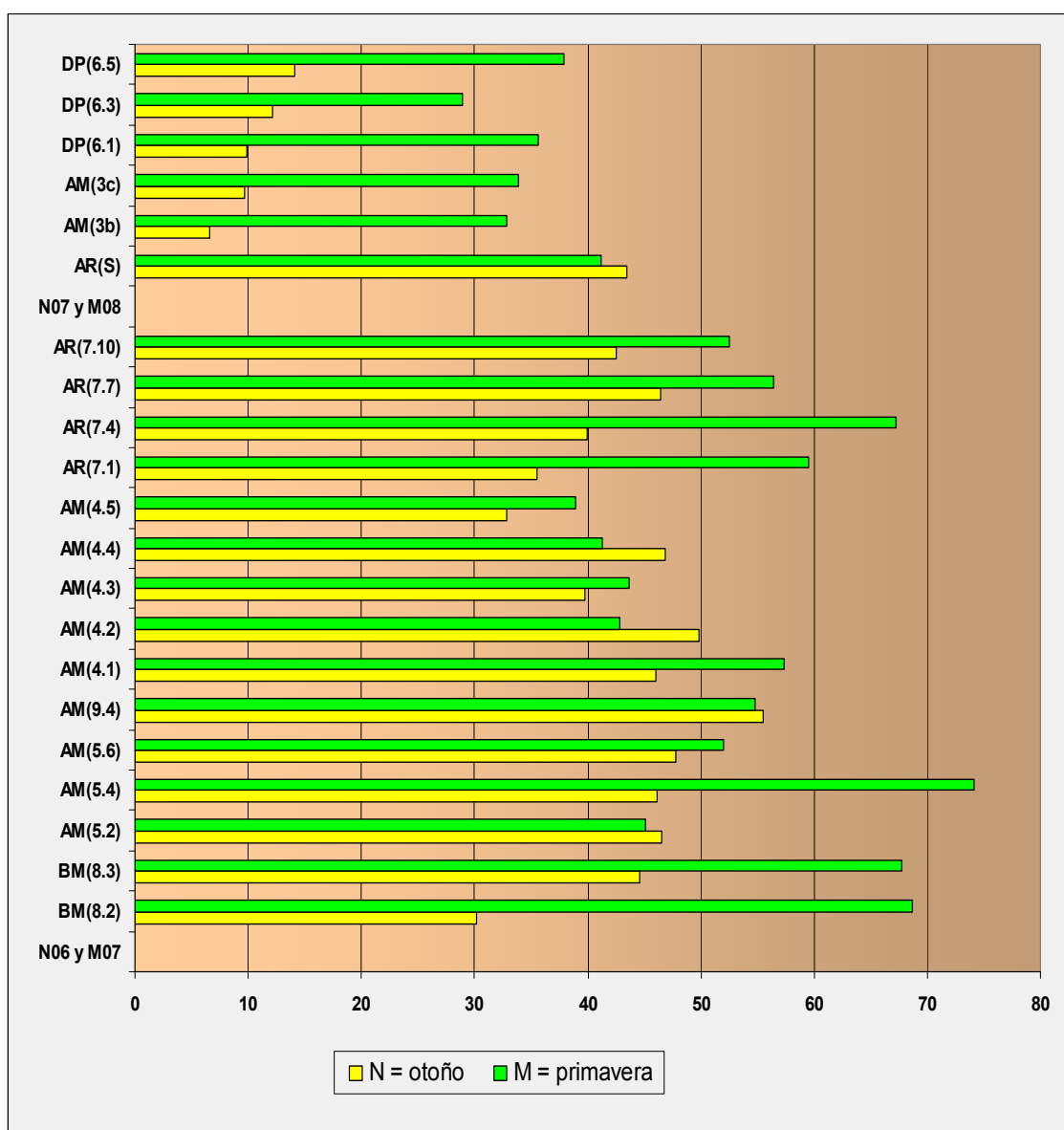


Figura 41.- Humedad “in situ” (en % WHC).

Los valores de contenido en humedad en relación al peso fresco de la muestra se presentan en el gráfico (Fig. 42).

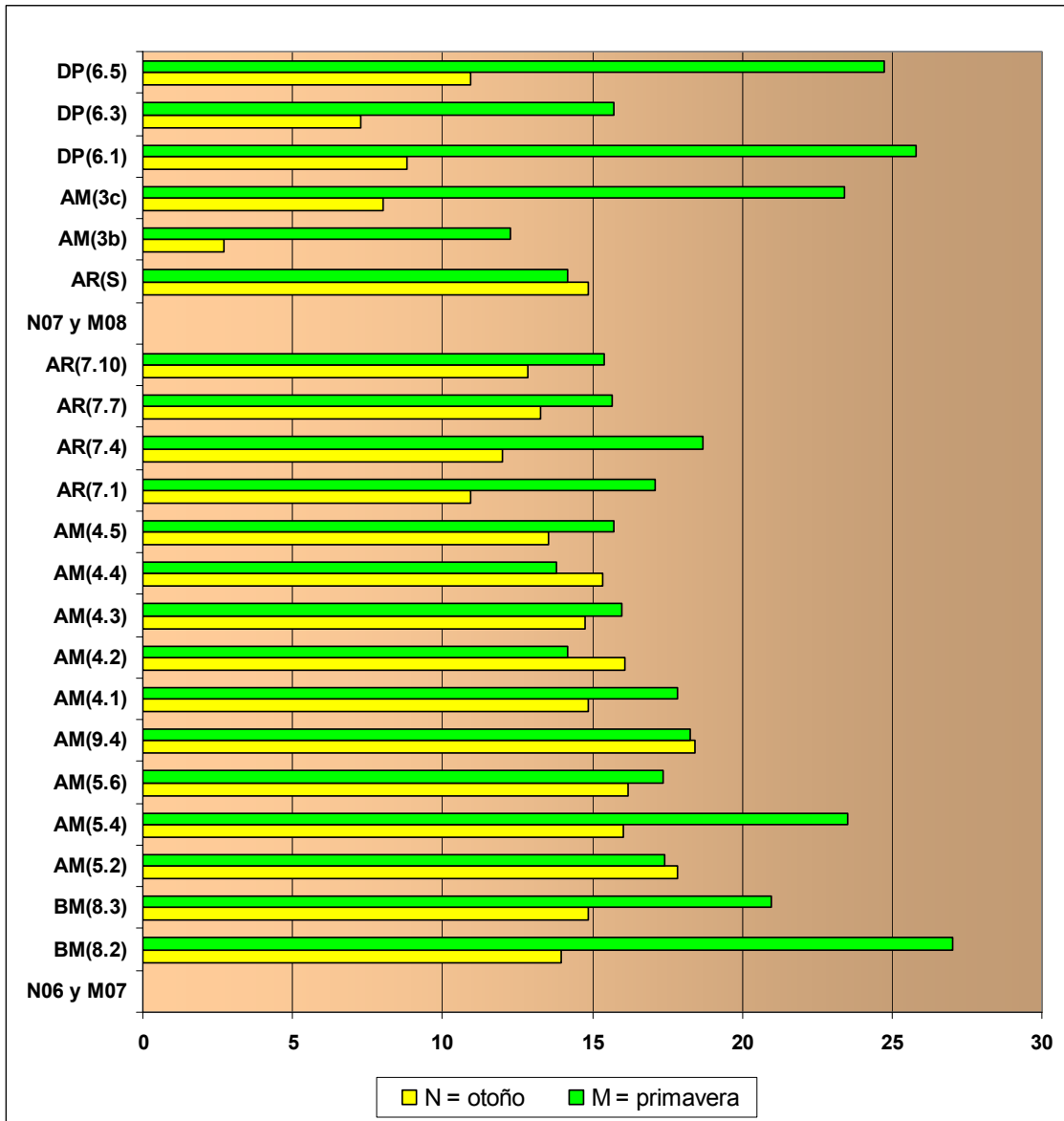


Figura 42.- Humedad “in situ” (en % p.f.).

pH en H₂O.

Los valores obtenidos están representados en la Figura 43. Excepcionalmente son superiores a 7, lo que sólo ocurre en 7 muestras, 4 de ellas de la parcela AM(5), 2 muestras en el punto AM(3b) y una muestra de las 6 tomadas en la parcela DP(6). La tendencia general es que el pH de las muestras tenga un carácter ácido, lo que se entiende que es normal en la zona, explicable por la litología. De hecho, los valores más bajos analizados provienen de muestras tomadas en suelo natural no alterado, como son

los correspondientes al bosque mediterráneo BM(8). Valores de pH muy similares se han obtenido en otros trabajos (Schmid *et al.* 2005). En lo referente a los valores más altos de pH en aquellos puntos afectados por metalurgia, como los hornos de Almadenejos, se incide también en trabajos previos del grupo (Millán *et al.* 2010) y en el mismo sentido que otros autores (Higuera *et al.* 2003). En otros puntos afectados por metalurgia, como las escombreras metalúrgicas peri urbanas de Almadén, también se describen puntos con pH neutro o ligeramente alcalino, acompañado o no de presencia de carbonato cálcico (Conde Bueno *et al.* 2009).

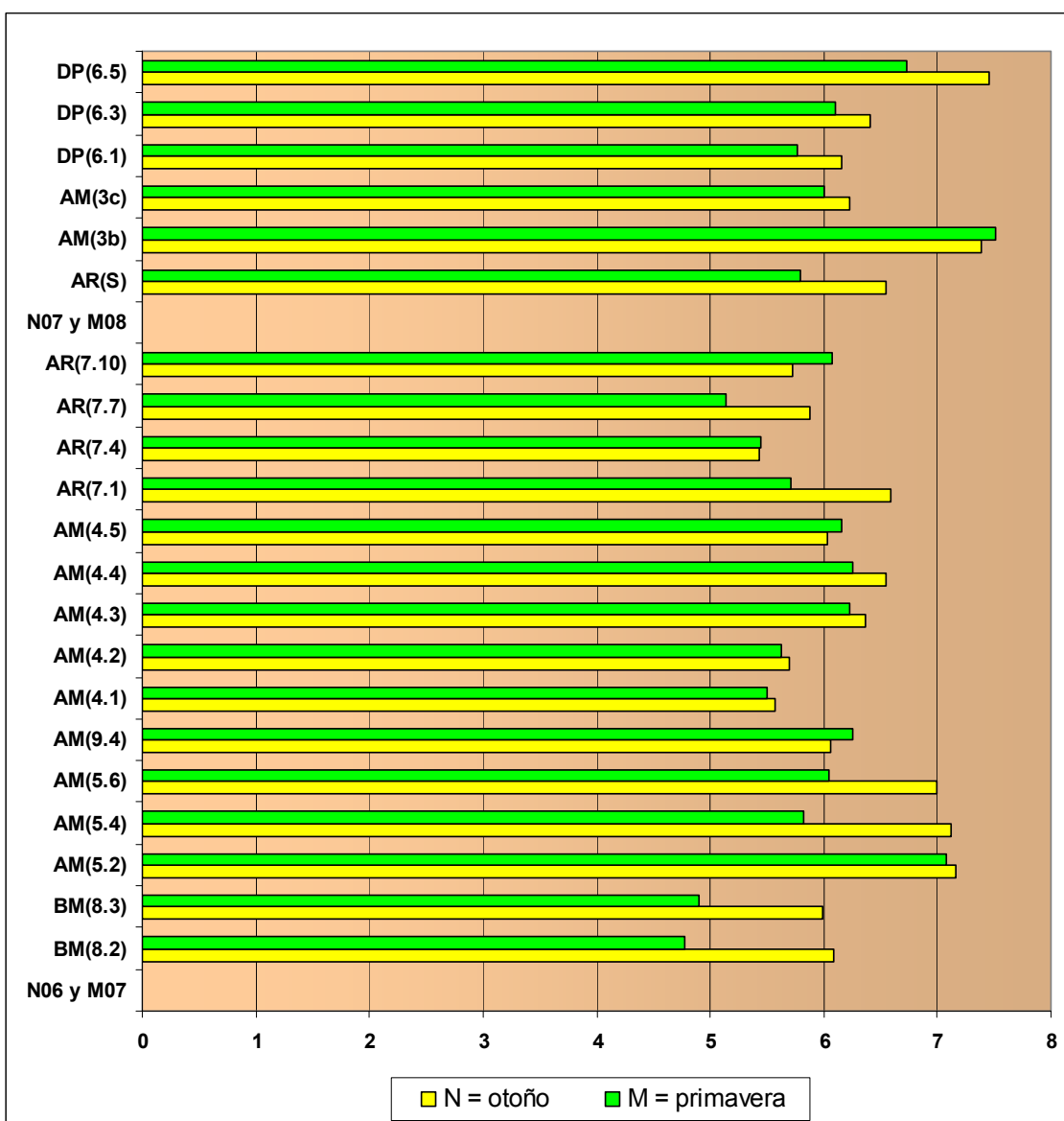


Figura 43.- pH en H₂O.

Conductividad eléctrica.

Los valores de conductividad obtenidos (Fig. 44) corresponden en su mayoría a suelos no salinos, por debajo del nivel de referencia indicado con la línea roja de la Figura 44, las muestras que superan ese valor de referencia corresponden a la siguiente categoría en salinidad, esto es: “suelo muy ligeramente salinos”, los valores de referencia mencionados siguen la clasificación USDA (USA 2011a).

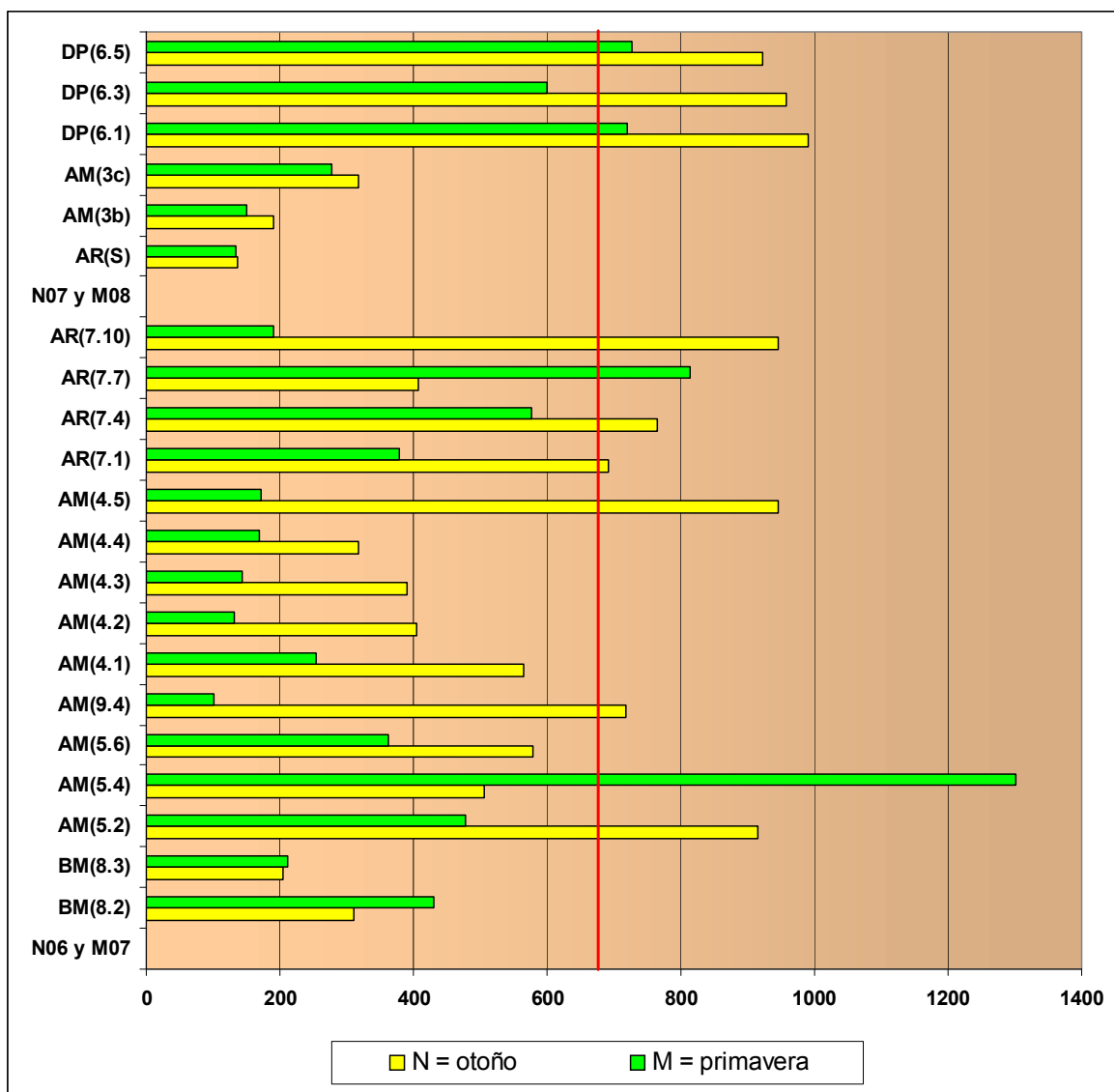


Figura 44.- Conductividad a 25°C (dS m⁻¹) x 10⁻³. La línea roja indica el nivel por debajo del cual se consideran suelos no salinos (USDA 2011a).

Síntesis de las propiedades físicas y físico-químicas: Identificación de las posibles causas de perturbación producidas por las actividades mineras y metalúrgicas.

Las características físicas y físico-químicas analizadas nos indican que los suelos de Almadén tienen unos valores de densidad aparente y granulometría que nos remiten a

horizontes superficiales arenosos y con una densidad aparente adecuada para la circulación de aire y agua. Adicionalmente, las muestras se tomaron con unos contenidos en humedad que, en la mayor parte de las muestras, permitían una actividad óptima de los microorganismos del suelo, con unos valores de capacidad de retención de agua que no parecen afectados más que por el contenido de materia orgánica de los suelos y con unos valores de conductividad propia de suelos no salinos. Por otro lado, el valor de pH predominante en los suelos de la zona es ácido; de hecho los valores más bajos de pH corresponden a las parcelas de bosque mediterráneo (BM), que representan suelos poco alterados antrópicamente. De los resultados obtenidos no se desprende ninguna alteración significativa de las características de los suelos por la actividad minera o metalúrgica. No obstante hay que destacar que los valores más altos de pH se encuentran en zonas claramente afectadas por la actividad metalúrgica. Así, estos valores relativamente altos de pH se han encontrado en los antiguos hornos de Almadenejos (parcela AM(5)), algo que ya se ha mencionado en otros trabajos del grupo y los que se han obtenido en AM(3b), en la proximidad de la explotación minero-metalúrgica de Pb y Zn conocida como Quinto del Hierro.

IV.2.- Determinaciones químicas en los suelos de Almadén.

En este apartado se incluyen los resultados obtenidos en la caracterización química de los suelos estudiados en el escenario de Almadén, comenzando con aquellas variables que están relacionadas con la materia orgánica de los suelos, otras formas de carbono y relación entre ellas, así como nitrógeno y la relación C/N. La característica diferencial de Almadén con otros suelos, es su elevado contenido en mercurio. Esta variable y el contenido en metales pesados se presentan al final de este apartado.

Carbono y Nitrógeno en las muestras de Almadén.

En este apartado se presentan los resultados de:

- Carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}).
- Carbono orgánico total (COT).
- Relación carbono orgánico total /Carbono orgánico fácilmente oxidable.
- Carbono total.
- Carbono inorgánico.

- Carbonatos.
- Carbono soluble.
- Nitrógeno y relación C/N.

A continuación se aborda el análisis de distintas formas de carbono, así como del nitrógeno y de la relación C/N, como elementos principales que constituyen la materia orgánica del suelo. En este trabajo se ha decidido no incluir valores asignados a la variable materia orgánica, ya que, en realidad, esta se establece a partir de los valores de carbono orgánico fácilmente oxidable sobre los que se aplicaría el denominado factor de Van Bemelen, un factor empírico con un valor de 1,724 (Pribyl 2010). Como todos los factores empíricos, este también está sometido a controversias y presentar simultáneamente valores de materia orgánica calculados a partir de los valores analizados de carbono orgánico fácilmente oxidable, sería finalmente dar una información redundante.

Carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}).

El carbono es el principal constituyente de la materia orgánica de los suelos; sus características y contenido en el suelo determinan buen número de las propiedades, físicas, químicas y biológicas del suelo (Porta *et al.* 2003). El carbono de la materia orgánica de los suelos es una fuente de energía y elemento estructural, siendo utilizado por los microorganismos para el aumento de la masa microbiana. El carbono orgánico más fácil de oxidar es el más susceptible de sufrir una transformación heterótrofa aerobia, por lo que conociendo su cantidad tenemos un primer índice de fuente de energía lábil que se utilizará de forma prioritaria a otra cuyo consumo pueda requerir un mayor gasto inicial de energía al ser más recalcitrante a la oxidación.

La relación entre el carbono orgánico oxidable y el carbono orgánico total indica la cantidad relativa de carbono en el suelo que está implicado activamente en el metabolismo edáfico. Lógicamente, el carbono orgánico fácilmente oxidable nunca puede ser mayor que el carbono orgánico total, pero en situaciones en las que el contenido de carbono orgánico fácilmente oxidable esté próximo al carbono total se puede obtener algún resultado incoherente.

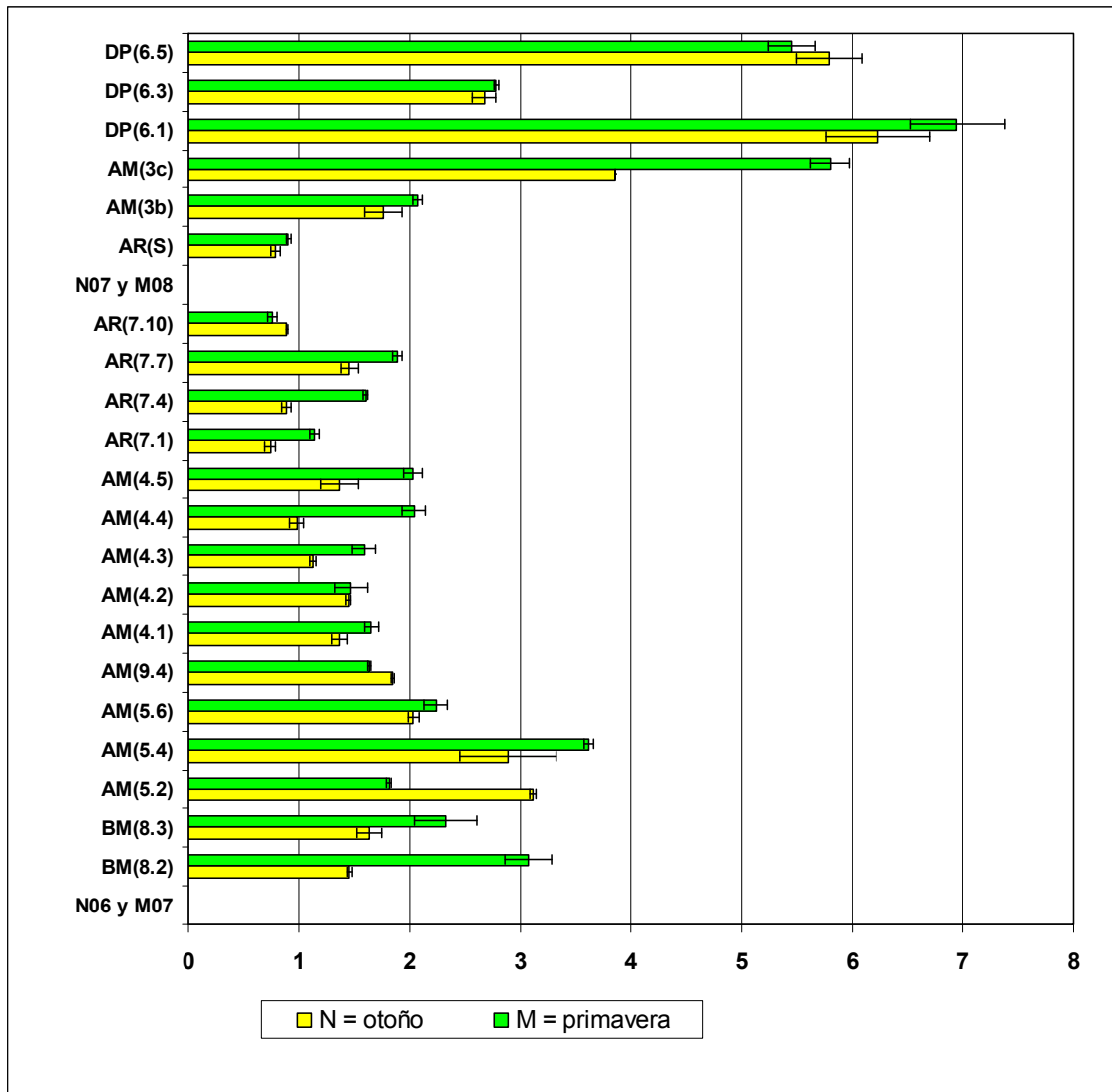


Figura 45. – Carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}) (% p.s).

Los valores de carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}) analizados en Almadén tienen un mínimo de 0,74%, en la muestra AR(7.1) de otoño de 2006 y un máximo de 6,95%, en DP(6.1). Si aplicáramos el factor de Van Bemelen, 1,724, obtendríamos en todos los casos valores de materia orgánica por encima del 1%, algo que parece concordante con las condiciones climáticas y los usos del suelo de la zona (Porta *et al.* 2003). Sólo en algunas muestras, de parcelas donde se practica o ha practicado agricultura, el contenido de materia orgánica estaría por debajo del 2%, que es el umbral por debajo del cual puede considerarse a los suelos como relativamente pobres en materia orgánica. Los valores que obtendríamos de materia orgánica serían equiparables a los analizados previamente (Schmid *et al.* 2005) y, en general, a los descritos por otros autores (Conde Bueno *et al.* 2009), excepto en los valores extremos que indican, una

muestra con valor de 0,1% y otras dos con valores superiores al 16% de materia orgánica.

Variabilidad de los valores de CO_{FO} según la época de muestreo.

En este apartado comentaremos si existen o no diferencias entre las muestras que se tomaron en otoño (de 2006 y 2007) y las que se tomaron en primavera (de 2007 y 2008). No se podría hacer una comparación, según el año de muestreo, entre los valores de las muestras tomadas en las dos primeras campañas con los valores obtenidos para las muestras tomadas en las dos últimas campañas, ya que los puntos de muestreo fueron diferentes. Así, en el caso del CO_{FO} y en el de todas las variables que ofrecen una correlación muy alta y positiva con ella (masa microbiana, respirometría basal, etc.), encontramos una diferencia de valores entre las muestras tomadas en las dos primeras campañas, otoño de 2006 y primavera de 2007 y las muestras tomadas en la dos últimas campañas, otoño de 2007 y primavera de 2008, que realmente pueden ser achacables en primer lugar a los diferentes usos del suelo, en las dos últimas campañas se muestreó en la dehesa de pasto (DP6) con valores muy altos de carbono orgánico fácilmente oxidable, tal como se aprecia, en el diagrama de caja y bigotes (Fig. 47). Independientemente de lo anterior, conviene mencionar que el año 2005, el anterior al primer muestreo, fue el año más seco desde que hay registros en la zona de Almadén, en el año 1970, (Figuras 3 y 4) lo que quizá haya podido influir en los valores de estas variables en las dos primeras campañas.

En la Figura 46 se recoge el diagrama de caja con la distribución de los valores de carbono orgánico fácilmente oxidable. No existen diferencias estadísticamente significativas para CO_{FO} según la época de muestreo (ANEXO I).

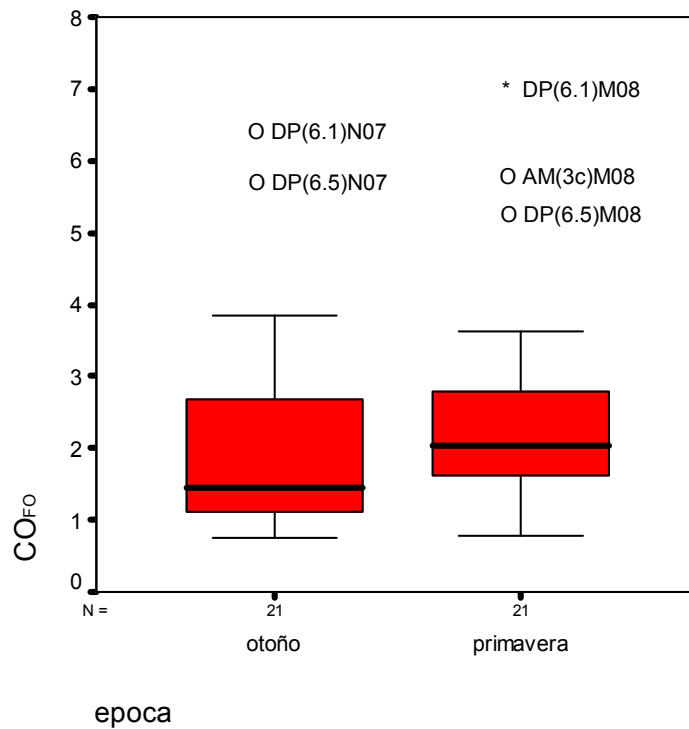


Figura 46.- Diagrama de caja, distribución de carbono orgánico fácilmente oxidable según la época de muestreo.

Variación de los valores de CO_{FO} según el uso del suelo.

El diagrama de caja de la Figura 47 muestra valores más altos de CO_{FO} en el uso dehesa de pasto, existiendo diferencias estadísticamente significativas en los valores de CO_{FO} para ese uso de suelo. El uso agrícola también presentaría una media menor, de forma estadísticamente significativa con el resto de usos, mientras que afectación metalúrgica y bosque mediterráneo no presentaría diferencias estadísticamente significativas entre sus medias (ANEXO I).

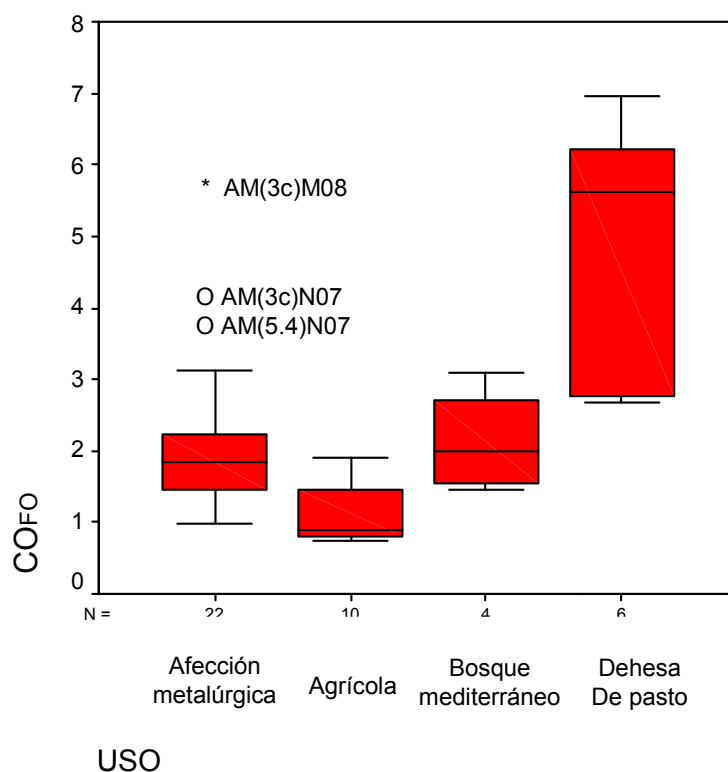


Figura 47.- Diagrama de caja, distribución de carbono orgánico fácilmente oxidable según el uso.

Carbono orgánico total (COT).

El carbono orgánico total (COT) resulta de la diferencia entre el carbono inorgánico y el carbono total. Se han obtenido valores que fluctúan entre el 0,83% y el 9,66%, siendo valores sensiblemente superiores a otros obtenidos en regiones áridas del sureste español (García *et al.* 1994), pero más bajos que los descritos para pinares y melojares del noroeste de la Península Ibérica (Díaz-Raviña *et al.* 1995).

Los resultados aparecen recogidos en la Figura 48, en la que se puede apreciar una distribución de valores muy similar a la del CO_{FO}. La correlación entre ambas variables es muy alta ($r = 0,98$).

Los valores más elevados de COT se obtuvieron en la dehesa de pasto, especialmente en los puntos de muestreo DP(6.5) y DP(6.3) y los valores más bajos en la parcelas de uso

agrícola, particularmente en AR(S) y en AR(7), especialmente en las muestras de otoño de los puntos AR(7.4) y AR(7.1).

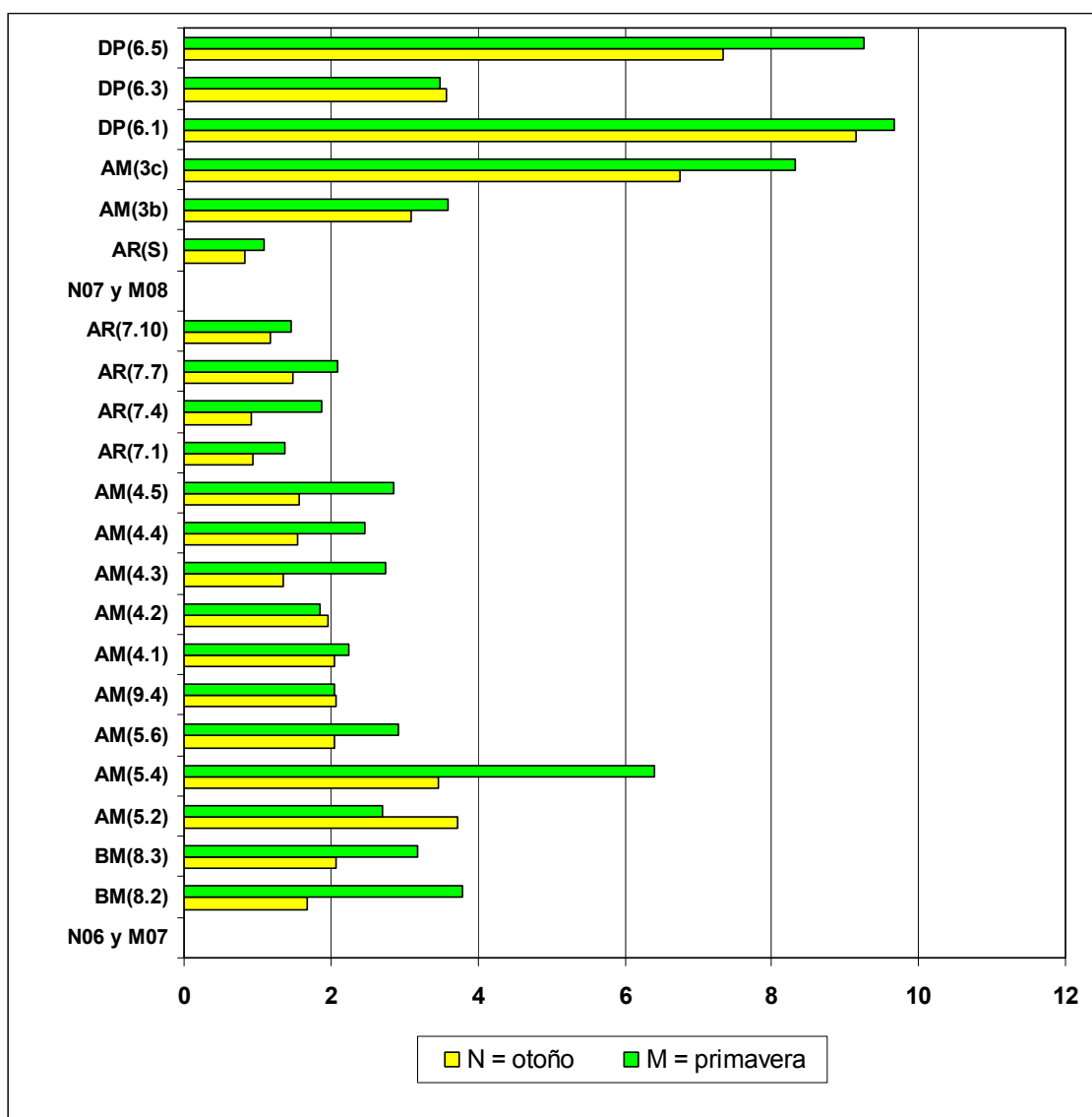


Figura 48.- Carbono orgánico total (COT) (% p.s.).

Relación COT/CO_{FO}.

Los valores de la relación entre el carbono orgánico total y el carbono orgánico fácilmente oxidable se presentan en la Figura 49. El valor más bajo obtenido es de 1,01 y el más alto de 1,92, con un valor medio de 1,34 y una desviación típica de 0,23. En principio los valores parecen relativamente próximos a 1, lo que indica que la mayor parte del carbono orgánico de la muestra es carbono orgánico fácilmente oxidable.

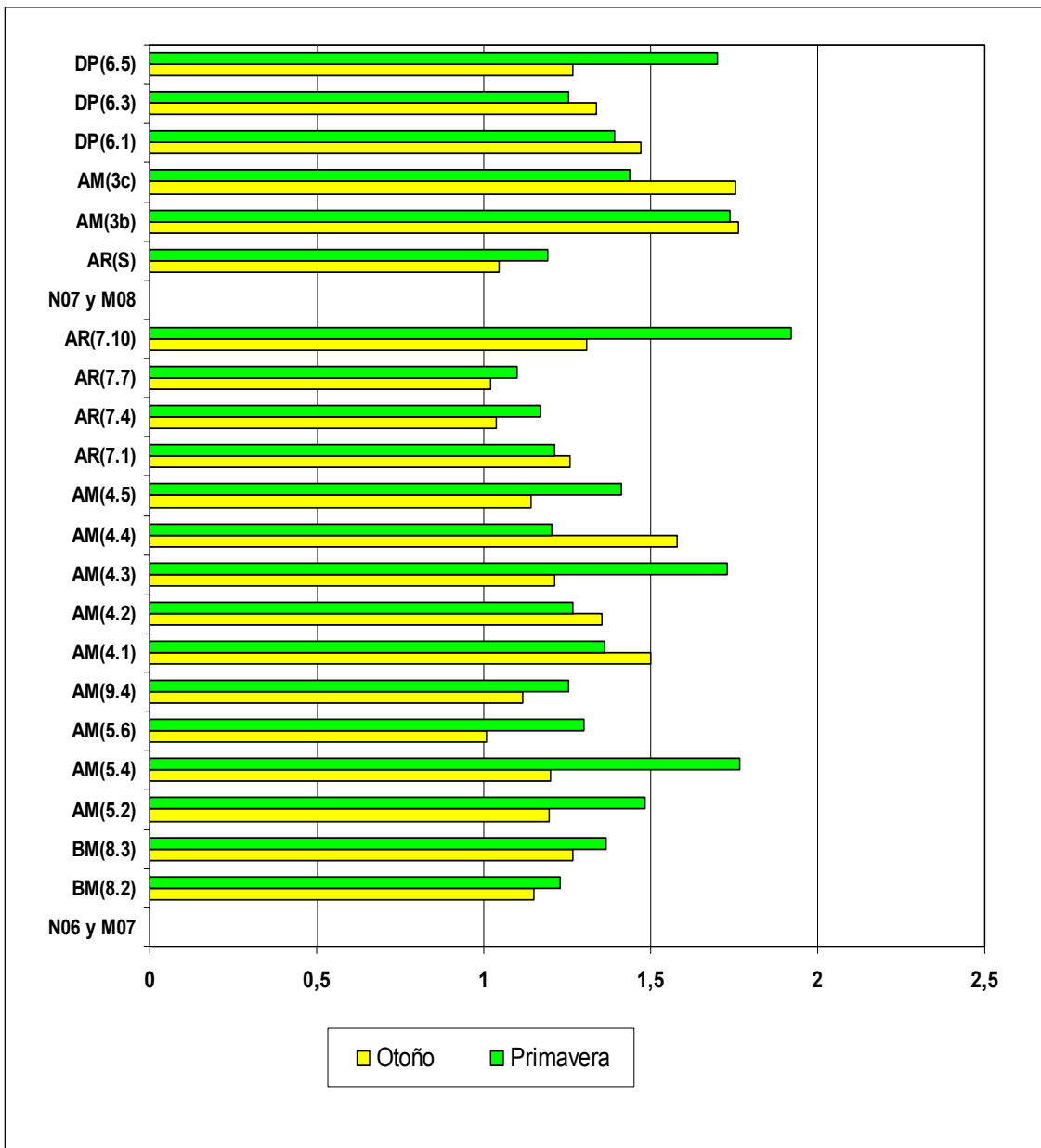


Figura 49.- Relación COT/CO_{FO}.

Variabilidad de los valores de la relación COT/CO_{FO} según la época de muestreo.

El diagrama de caja de la Figura 50 representa la distribución de esta variable según la época de muestreo. No existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de la relación COT/CO_{FO} según la época de muestreo (ANEXO I).

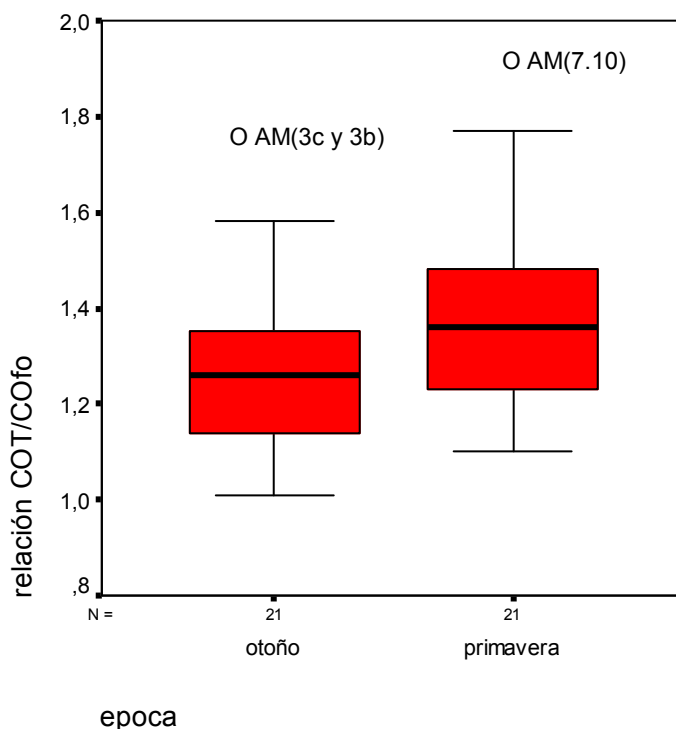


Figura 50.- Diagrama de caja, relación COT/CO_{FO}, según la época de muestreo.

Variabilidad de los valores de la relación COT/CO_{FO} según el uso del suelo.

Los valores de la relación COT/CO_{FO} obtenidos en el uso afectación metalúrgica son algo mayores que en los otros usos, quizá debido a la aportación de restos de combustible, carbón, leña, en diferente grado de combustión lo que puede haber contribuido a un valor un tanto más alto del carbono orgánico total y por tanto elevar la relación COT/CO_{FO}. Por otro lado, a excepción de un valor anormal, los valores más bajos de la relación COT/CO_{FO} se han obtenido en las parcelas que se han dedicado a la agricultura. Pese a lo anterior las diferencias no son estadísticamente significativas (ANEXO I).

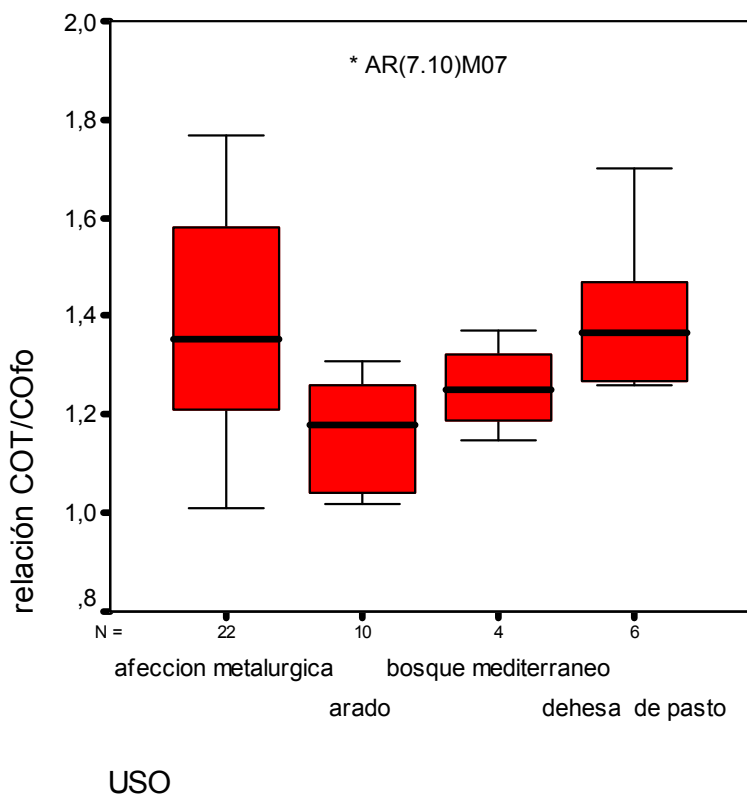


Figura 51.- Diagrama de caja, relación COT/CO_{FO}, según el uso del suelo.

Carbono total.

La distribución de valores de carbono total en los puntos de muestreo es muy similar al del carbono orgánico fácilmente oxidable. El rango oscila entre el 0,85 y el 9,7%, los resultados se presentan en la gráfica de la Figura 52.

La distribución del carbono total es muy similar a la del carbono orgánico fácilmente oxidable y a la del carbono orgánico total, el índice de correlación entre las formas de carbono mencionadas tiene valores muy altos ($r > 0,96$). Así, la similitud en la distribución de valores de las distintas formas de carbono comentadas hasta el momento, aplica tanto en lo que se refiere a la diferencia de valores obtenidos en las dos primeras campañas, otoño de 2006 y primavera de 2007, generalmente más bajos que los obtenidos en las dos últimas campañas, otoño de 2007 y primavera de 2008 y también la distribución de los valores en los distintos puntos de muestreo es muy similar a la distribución de valores obtenidos para el CO_{FO} y para el COT, valores más altos en la dehesa de pasto, en este caso el punto de muestreo DP(6.1) es el que presenta un

valor de carbono total más elevado y con los valores más bajos en las parcelas de uso agrícola, especialmente en el punto de muestreo AR(S)

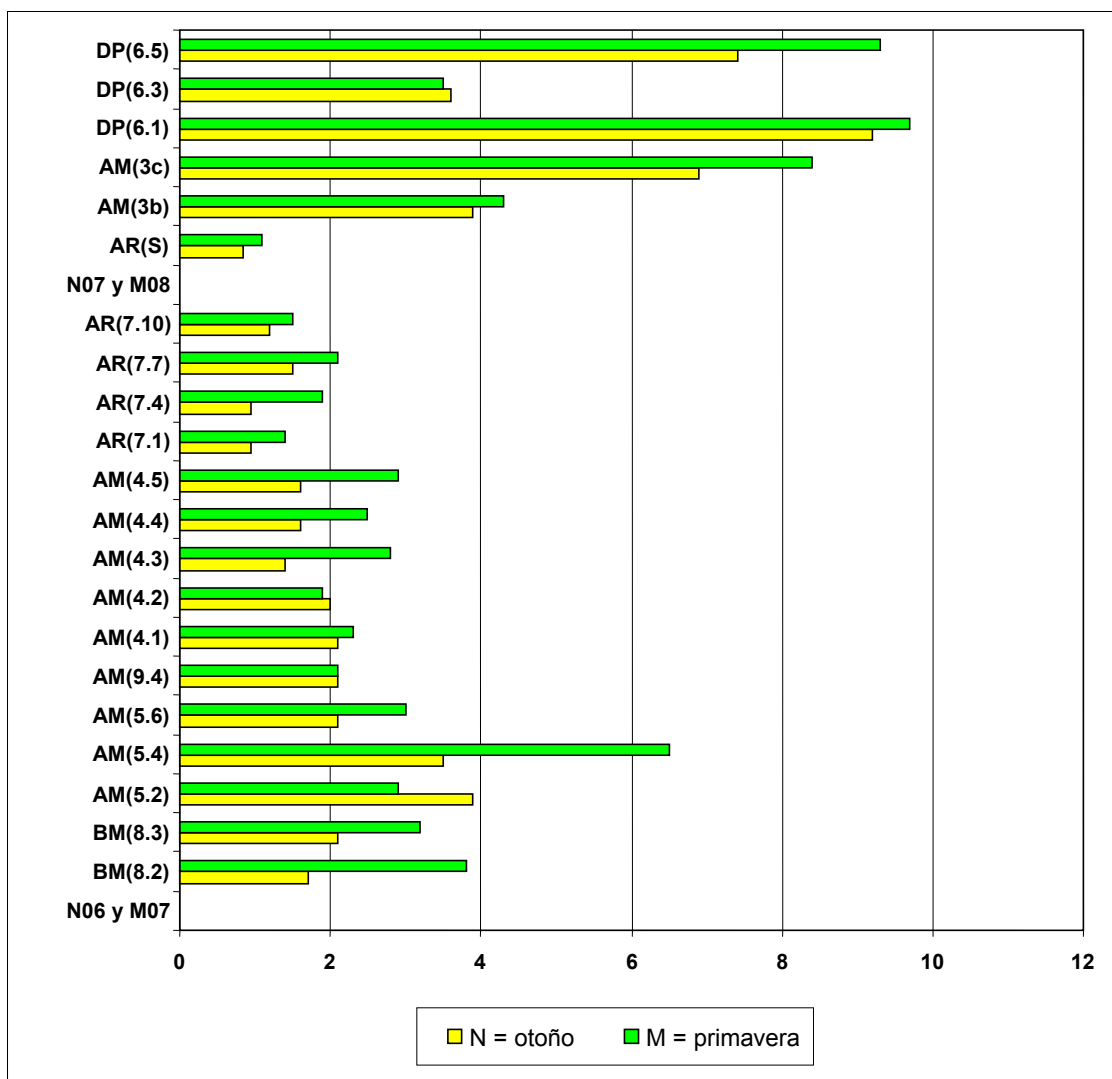


Figura 52.- Carbono total (% p.s.).

Carbono inorgánico.

El intervalo de variación del carbono inorgánico oscila entre 0,01% y 0,81%, siendo el valor de la mediana 0,04% y el de la media 0,08%. Se trata de valores muy bajos, justificables por la litología de la zona, aunque en parcelas donde parece haberse dado alguna actividad metalúrgica, como en la zona AM(3), en el paraje denominado Quinto del Hierro y en AM(5), los antiguos hornos de Almadenejos, es donde aparecen los valores más elevados. Son destacables los índices de correlación elevados y positivos ($r = 0,96$) de contenido en carbono inorgánico con Pb y Zn, asociados especialmente con

el punto de muestreo AM(3b). Los resultados para el carbono inorgánico aparecen representados en el gráfico de la Figura 53.

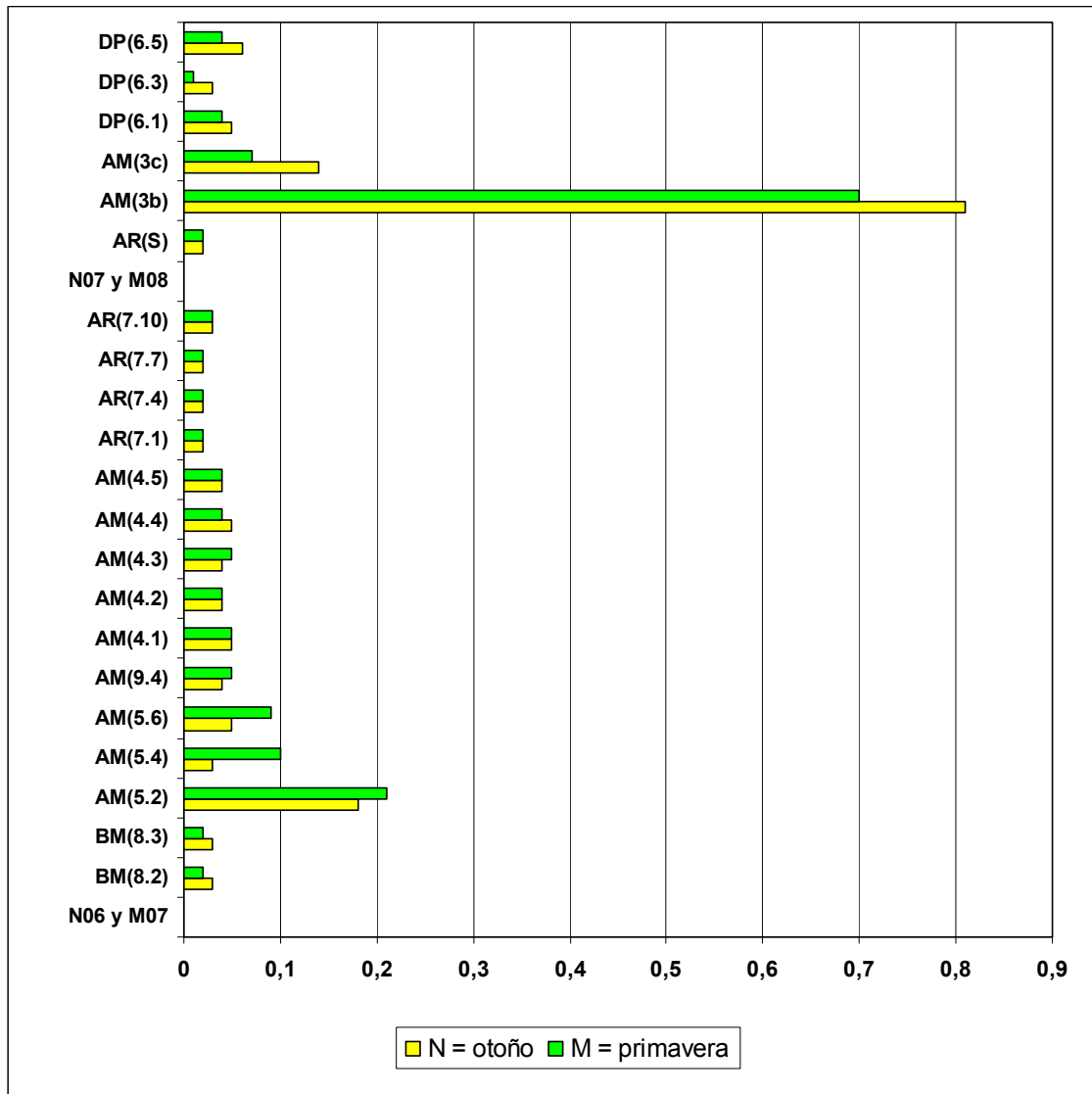


Figura 53.- Carbono inorgánico (% p.s.).

Carbonatos.

Los resultados obtenidos para los carbonatos se muestran en la Figura 54. Lógicamente, la correlación de carbonatos con carbono inorgánico es muy elevada ($r = 0,95$). Algunos autores han descrito valores de carbonato cálcico sensiblemente más altos en el cerco de Almadenejos que en El Entredicho (Moreno-Jiménez *et al.* 2006), quizá utilizado para labores constructivas o de reparación de los hornos (Higuera, comunicación personal) o quizá a algún procedimiento metalúrgico más primitivo. Otros autores encontraron

valores elevados de carbonato cálcico en algunos emplazamientos de escombreras metalúrgicas, en el entorno urbano de Almadén (Conde Bueno *et al.* 2009), quizá explicable por el uso de carbonato cálcico en la gestión de condensados de los Hornos más modernos –Pacific-. Si bien una práctica agrícola es el encalado, nuestros datos no parecen indicar que en las parcelas muestreadas en Almadén se haya empleado.

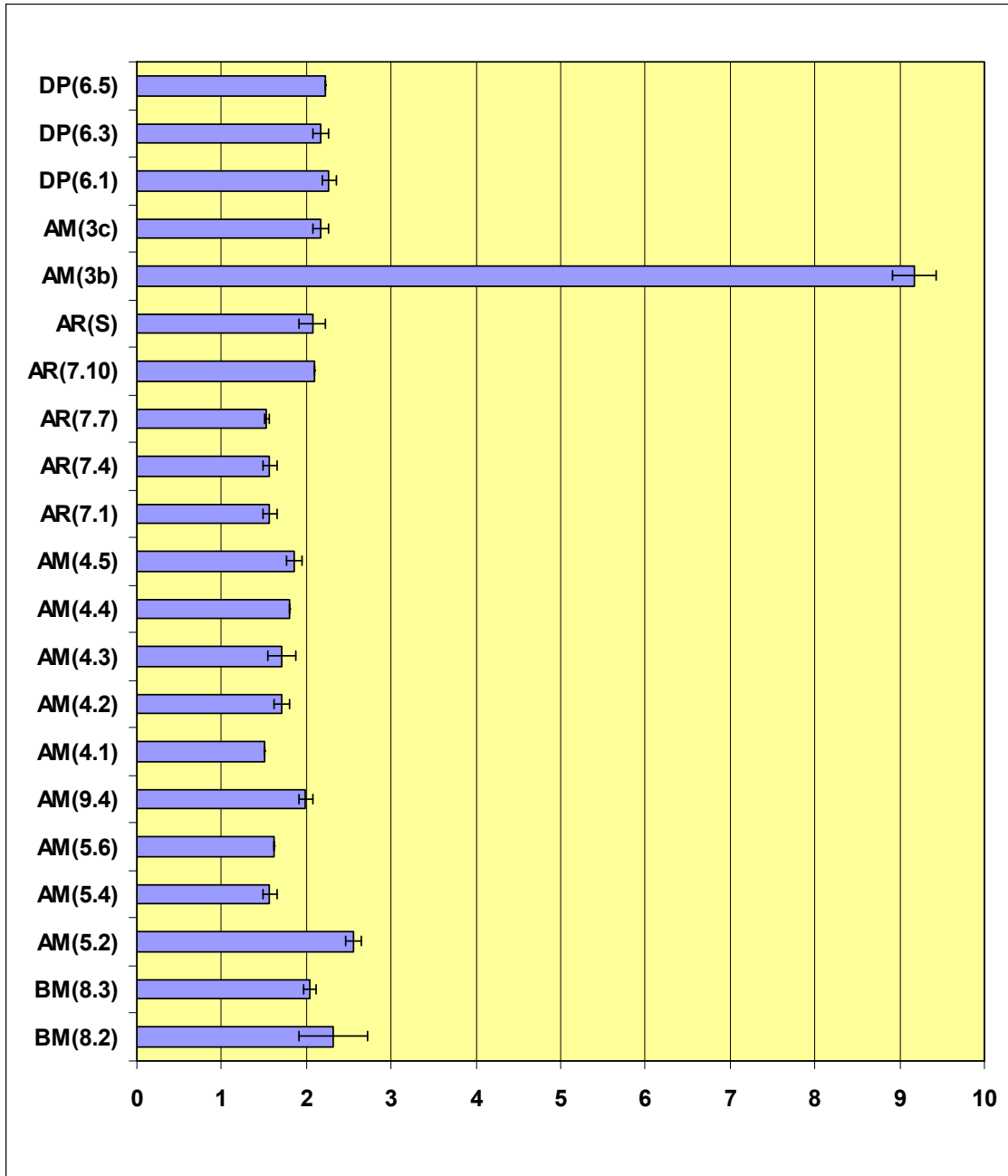


Figura 54.- Carbonatos (% p.s.).

Carbono soluble en agua.

Esta forma de C está relacionada con la disponibilidad de carbono fácilmente degradable. La determinación se realizó en muestras correspondientes a la campaña de otoño de 2006. En el gráfico de la Figura 55 se muestran los resultados obtenidos de carbono extraíble con agua (WSC); carbono extraíble con agua caliente (HWSC) y la suma de ambos (total WSC). Los valores que se presentan son absolutos, expresados en mg kg^{-1} de carbono soluble, que nos informan de la cantidad de carbono disponible en la solución del suelo que se encuentra en cada punto de muestreo. Los valores más altos, tanto de carbono soluble total como de carbono soluble en agua caliente corresponden mayoritariamente a la parcela AM(5), los antiguos hornos metalúrgicos de Almadenejos. Por otro lado, los tres valores más altos de carbono soluble en agua (WSC), que sería el más fácilmente disponible, corresponden a los tres puntos de la parcela AM(4) que se encuentran en la parte más baja del transecto AM(4.5), AM(4.4) y AM(4.3). El hecho de que los valores más altos del carbono más soluble (WSC) estén en una parcela, la AM(4) distinta de aquella donde se encuentran los valores más altos de carbono soluble total, la parcela AM(5) nos indica una diferencia cualitativa en las formas de carbono soluble presentes en dichas parcelas, quizá debido al tipo de vegetación que encontramos en ellas. El efecto del arado –dilución y consumo de la fuente de carbono- también parece reflejarse en los valores de carbono soluble encontrados en la parcela AR(7). El carbono soluble total es relativamente bajo, en este caso, si se compara con el carbono soluble total en el resto de parcelas.

A partir de la relación entre el carbono soluble y el carbono orgánico total (Fig. 56), la información que se obtiene puede estar relacionada con la composición cualitativa de la materia orgánica en cada punto de muestreo. No obstante, al igual que ocurría con el carbono soluble en términos absolutos $-\text{mg kg}^{-1}$ -, en el caso de los valores de carbono soluble en relación con el carbono orgánico total (Fig. 56) los valores más bajos se han obtenido en el punto AR(7.4), mientras que los valores más altos aparecen en el punto AM(5.2). Más allá de la coincidencia mencionada, parece que no hay tanta diferencia entre el resto de valores de carbono orgánico soluble en relación con el COT. Así, podríamos indicar que la variación de carbono soluble en los puntos de muestreo es debida a las diferencias en la cantidad del carbono soluble total y no tanto a diferencias cualitativas en la composición de la materia orgánica.

Estos parámetros si parecen reflejar bien la disponibilidad de carbono en función del uso de la parcela y de la vegetación que encontramos en ella. Es razonable que encontremos coeficientes de correlación elevados entre carbono extraíble con diferentes solventes y variables de actividad microbiológica, ya que estamos tratando de la disponibilidad de la fuente de carbono. Esta disponibilidad va a favorecer el crecimiento de los microorganismos, de hecho presentan índices de correlación elevados y positivos con la masa microbiana obtenida por respirometría $C_{mic}(SIR)$ y tasa máxima de respiración, pero de forma muy especial con la masa microbiana obtenida por el método de fumigación extracción, con coeficientes de correlación de Pearson de 0,94 para el total de carbono soluble y de 0,97 para el carbono soluble en agua caliente. Valorando la utilidad de la información obtenida con este ensayo y reconociendo la posibilidad de que sea usado como índice de calidad de suelos (Ghani *et al.* 2003), la idea de sustituir con este ensayo (Sparling *et al.* 1998; Ghani *et al.* 2003) otros análisis de actividad fisiológica de los microorganismos del suelo no se considera en el alcance de este trabajo, ya que estas variables no informan directamente de la actividad microbiológica sino de un factor que contribuye a ella.

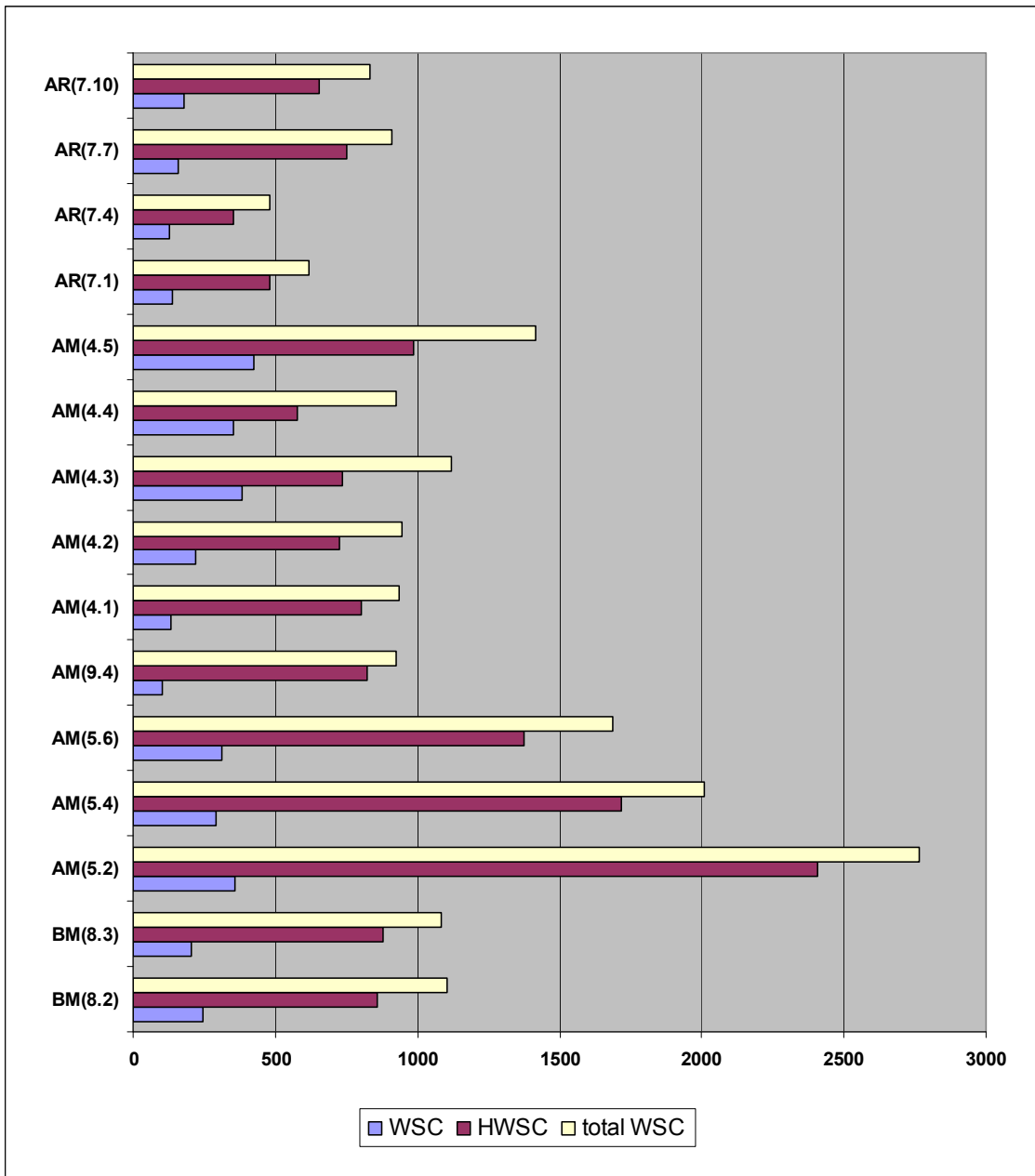


Figura 55.- Carbono soluble (en mg kg⁻¹). WSC: carbono soluble en agua. HWSC: carbono soluble en agua caliente. Total WSC: carbono soluble total.

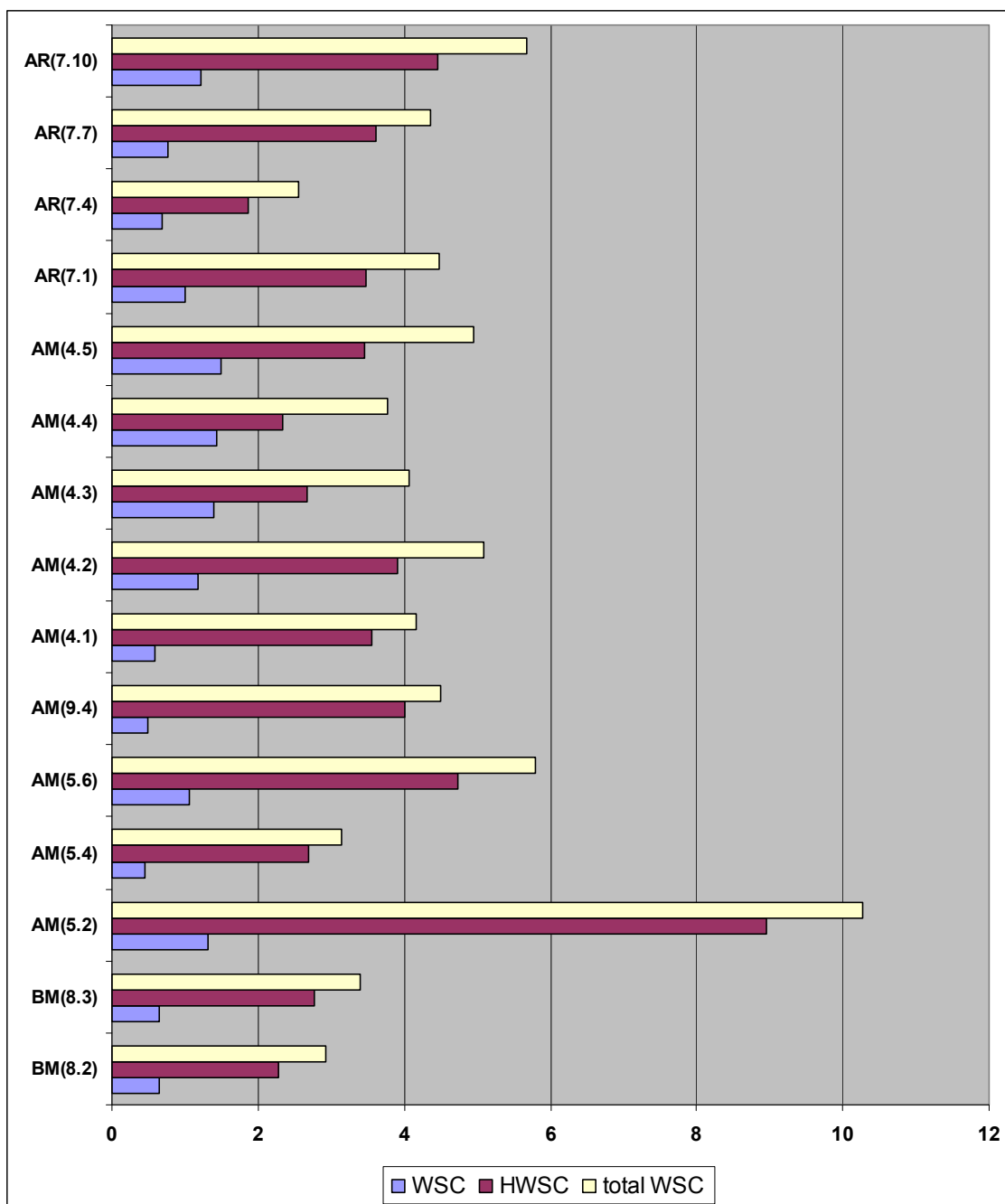


Figura 56.- Carbono soluble (como % de COT). WSC: carbono soluble en agua. HWSC: carbono soluble en agua caliente. Total WSC: carbono soluble total.

Nitrógeno y relación C/N.

El contenido de nitrógeno en los suelos de Almadén se presenta en el gráfico de la Figura 57. Se observa una diferencia destacable en el contenido en nitrógeno, siendo menor en las parcelas AR(S) y AM(3b), que en el resto de las parcelas que se muestrearon en las campañas de otoño de 2007 y primavera de 2008. En los muestreos de otoño de 2006 y primavera de 2007, se observa que la parcela AR(7), con uso

agrícola, al igual que las dos parcelas mencionadas anteriormente –aunque AM(3b) en este trabajo sea considerada como afectada por metalurgia-, tienen un menor contenido en nitrógeno total. La parcela que más alto contenido en nitrógeno presenta es la dedicada a la dehesa de pasto, DP(6), Por lo demás, los valores de nitrógeno parecen no ser restrictivos para la actividad biológica de los suelos, siendo más altos que los obtenidos en zonas áridas del sureste de la Península Ibérica (García *et al.* 1994). La alta correlación (valores de correlación superiores a 0,90, entre nitrógeno, CO_{FO}, así como COT y CT) indicaría que el nitrógeno está asociado mayoritariamente a la materia orgánica, a pesar de que en algunos puntos ha podido haber fertilización inorgánica, como en AR(S).

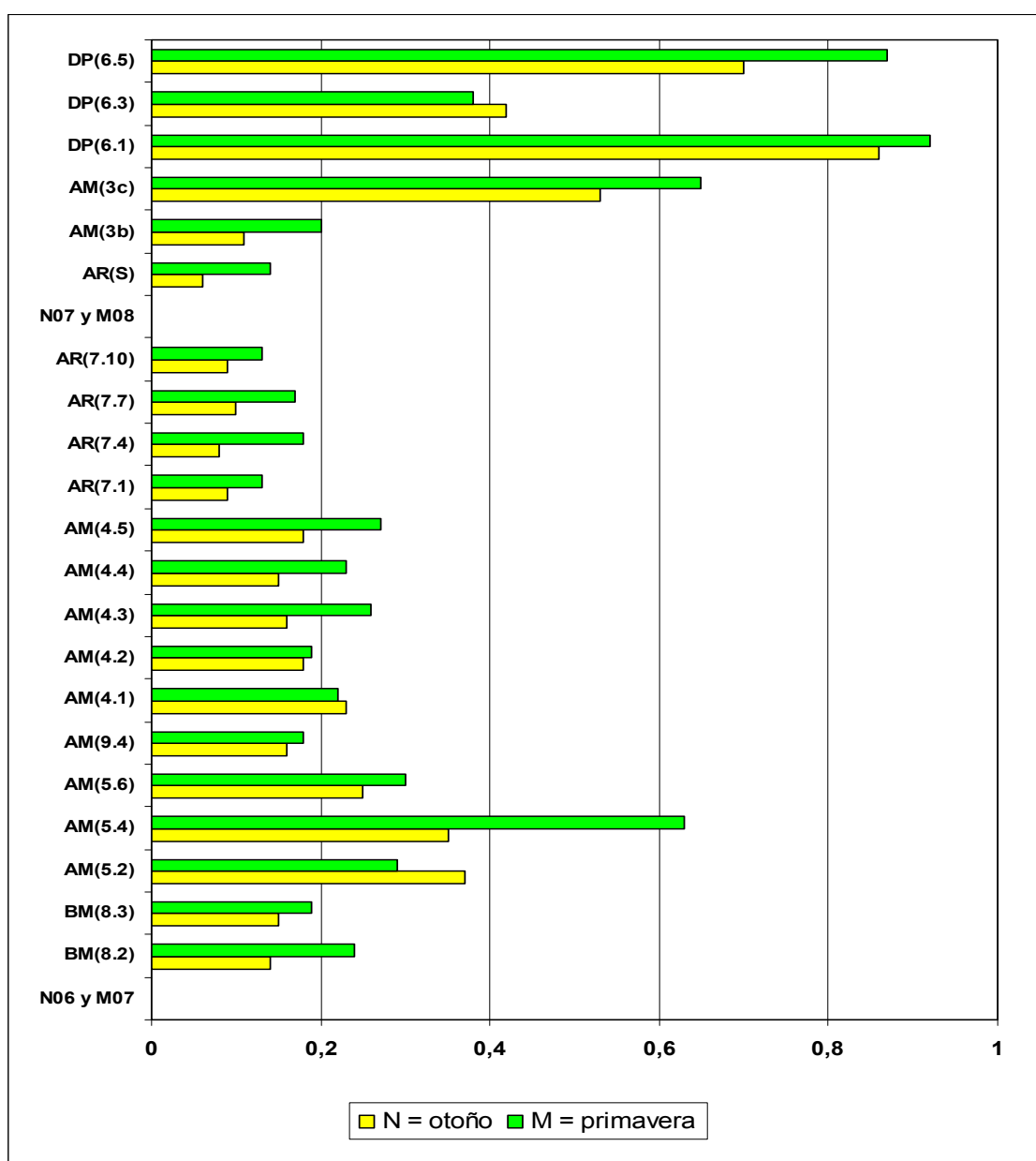


Figura 57.- Nitrógeno total (% p.s.).

Relación C/N.

En el gráfico de la Figura 58, se presentan los valores de la relación entre el CO_{FO} y el nitrógeno total. El rango oscila entre un mínimo de 5,75 en AM(5.4) en la primavera de 2007 y un valor máximo de 15,95, en la parcela AM(3b) en la campaña de noviembre de 2007. En general los valores más altos van a corresponder a parcelas donde se practica o se ha practicado la agricultura, AR(S) y AR(7) y también en AM(3b), donde también se practica la agricultura, aunque en este trabajo se la considere como afectada por actividades metalúrgicas.

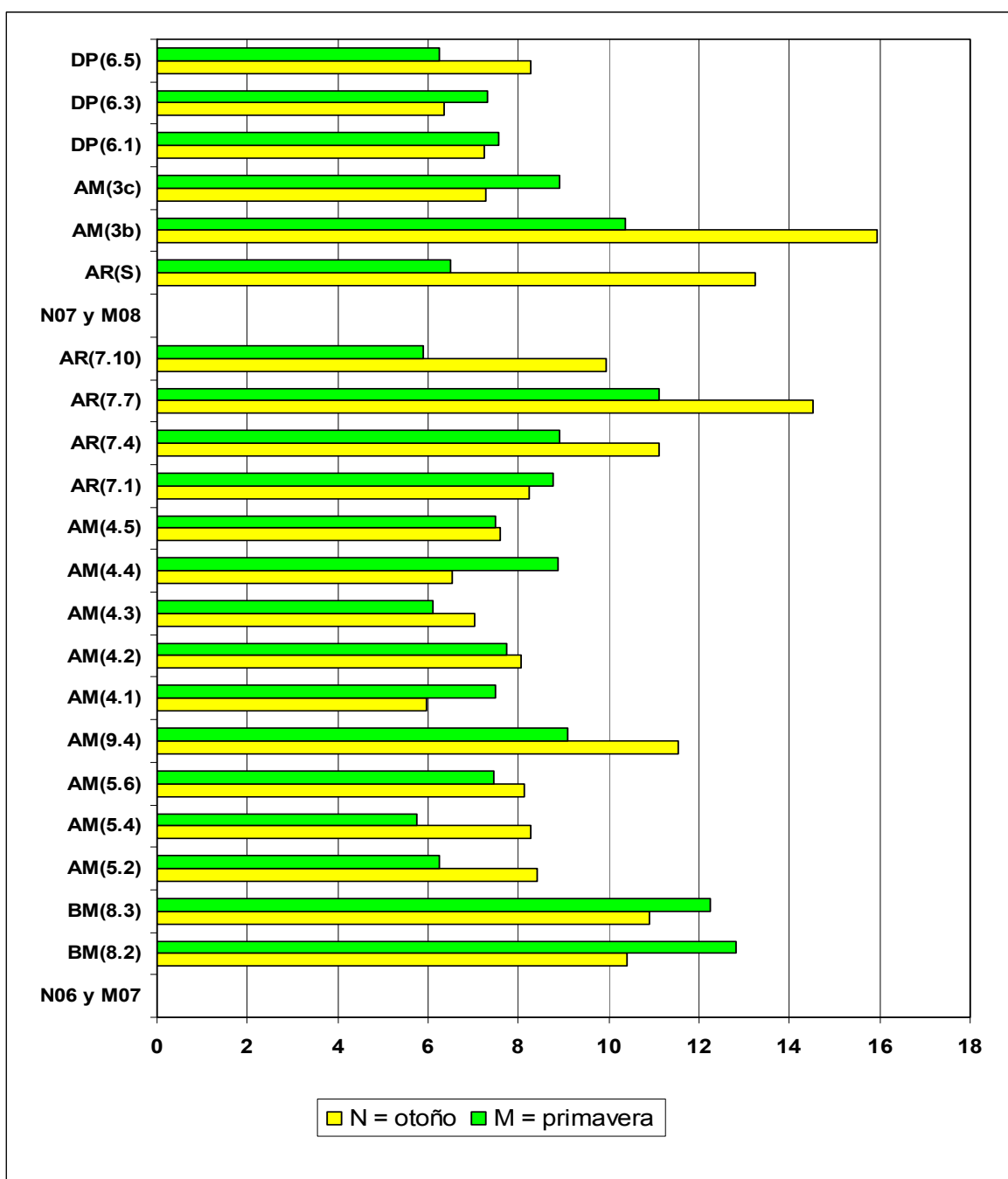


Figura 58.- Relación C/N.

Continuación de la discusión sobre el objetivo: Identificación de las posibles causas de perturbación del sistema edáfico producidas por las actividades mineras y metalúrgicas.

Si estimáramos el contenido en materia orgánica de los suelos de Almadén a partir de la aplicación, a los valores de carbono orgánico fácilmente oxidable, del factor de Van Bemelen, encontraríamos valores superiores al 1%, habida cuenta de que el clima en la Comarca Minera de Almadén es semi-árido se podría interpretar que los valores de materia orgánica se corresponden con las condiciones climáticas de la zona y con los usos de las parcelas de estudio.

Los usos del suelo influyen en el contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable; éste es el parámetro que hemos considerado como referencia para estimación del contenido en materia orgánica. Pero si comparamos entre usos, el único que presenta diferencias estadísticamente significativa con el resto de usos es la dehesa de pasto, con valores generalmente más altos que para otros usos. Los valores más bajos de carbono orgánico fácilmente oxidable pueden darse, por un lado en parcelas donde se haya producido la labor de arado y, un poco más alto que en suelos agrícolas en la parcela AM(4). No se puede pues establecer que la afectación minera o metalúrgica sobre el suelo vaya a influir, al menos negativamente, en el contenido de materia orgánica de los suelos afectados.

Tanto el nitrógeno total, como el carbono orgánico total y el carbono total van a presentar elevados índices de correlación con el carbono orgánico fácilmente oxidable, lo que nos indica su procedencia de la materia orgánica del suelo más que de otras posibles fuentes, como hubiera sido esperable en las parcelas con uso agrícola.

La influencia del contenido en materia orgánica en muchas otras variables del suelo es notoria y conocida (Porta *et al.* 2003) en nuestro caso de estudio el análisis de componentes principales ya nos muestra que el componente que explica la mayor varianza está claramente relacionado con la materia orgánica del suelo.

Metales en suelo.

En este apartado se presentan por un lado los resultados correspondientes al análisis de mercurio total en los suelos estudiados y por otro los resultados analíticos correspondientes a otros metales, como Pb, Ni, Zn y Cd.

El mercurio en la zona de Almadén.

La concentración de mercurio en suelos de Almadén se presenta en el gráfico de la Figura 59.

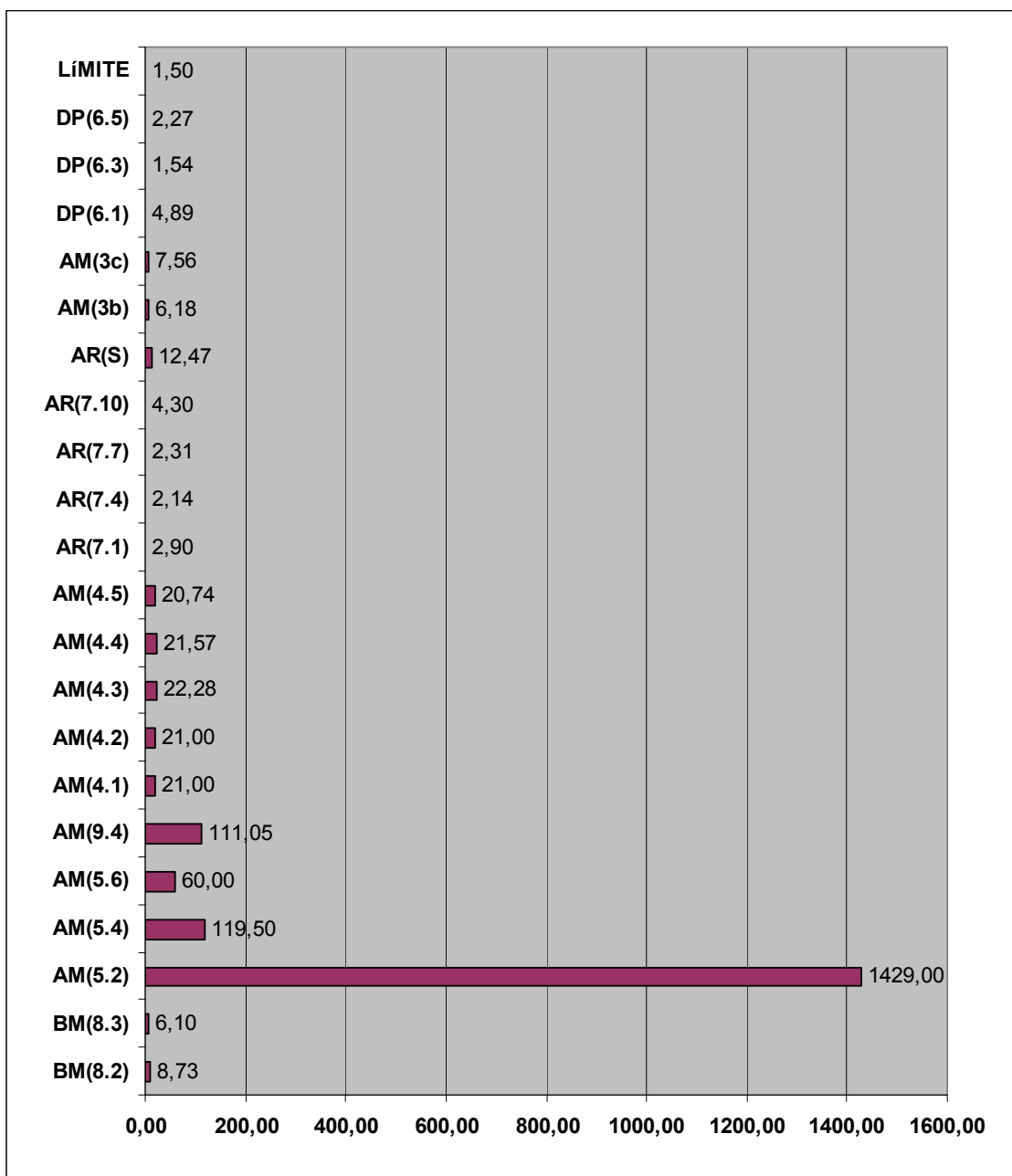


Figura 59.- Mercurio total (mg Hg kg⁻¹ suelo).

En cuanto a la concentración de mercurio total en suelos, hay que destacar que son valores muy elevados, entre 1,5 y más de 1429 mg de mercurio por kilogramo de suelo, al menos cuando se comparan con el rango de 0,01 a 0,03 mg Hg kg⁻¹ suelo (Senesi *et al.* 1999), rango considerado como referencia en suelos de la zona mediterránea (Higuera *et al.* 2006). Por otro lado, los valores límite para suelos agrícolas establecidos en el RD 1310/1990 (BOE 1990) que, para suelos con pH mayor de 7, establecen un límite de concentración de mercurio de 1,5 mg Hg kg⁻¹ de suelo.

Los valores obtenidos en este trabajo son equiparables a los obtenidos en trabajos previos: intervalo muy amplio de concentraciones que son muy elevadas en terrenos afectados por la actividad minera o metalúrgica, (Higuera *et al.* 2006; Millán *et al.* 2006; Conde Bueno *et al.* 2009).

Destaca la elevada concentración de mercurio en las muestras tomadas en la parcela de los antiguos hornos de Almadenejos (AM(5)). Tras la restauración de la escombrera de la mina en el casco urbano de Almadén, esta parcela ha quedado como el espacio más contaminado de la Comarca (Bernaus Darbra 2006). Este lugar está tan contaminado por la presencia en su recinto de los restos de los hornos, los calcinados, y por la baja eficiencia con la que trabajaron los hornos, que además facilitó la emisión a la atmósfera de mercurio en forma de mercurio metálico o formas iónicas, que son susceptibles de transformación en sales solubles como HgCl₂ y HgSO₄. Otros autores han descrito concentraciones muy elevadas de mercurio en suelos de esta parcela (Higuera *et al.* 2003; Bernaus Darbra 2006; Millán *et al.* 2006) y en los calcinados que se almacenan en los antiguos hornos (Gray *et al.* 2004). Sobre la heterogeneidad de los valores de mercurio obtenidos en esta parcela puede influir la propia anisotropía del suelo, aunque debería manifestarse de la misma manera en otras parcelas donde no se da tanta heterogeneidad. Parece más plausible la idea de que la variabilidad espacial en cuanto a la distribución de mercurio en esta parcela obedece más a la intervención antrópica en la misma (Millán *et al.* 2010), con zonas más contaminadas en las proximidades de los calcinados.

También presenta valores muy altos de mercurio el punto de muestreo ubicado en la base de la escombrera superior de la mina “El Entredicho” (AM(9.4)). Estos datos ponen de relieve como la actividad minera o minero-metalúrgica aporta mercurio

movilizado antrópicamente en estos puntos de muestreo, tal como ha venido siendo descrito por varios autores

Otro aspecto destacable es la concentración de mercurio en la parcela AM(4), que es la tercera parcela en cuanto a concentración de mercurio, con una concentración muy similar en todos los puntos y con desviaciones estándar relativamente bajas. Los valores que encontramos son similares a los encontrados en otras zonas de esa parcela en trabajos previos (Sánchez *et al.* 2005). La ubicación de esta parcela, a muy corta distancia, menos de 700 metros al este (dirección preferente de los vientos dirección E-W y viceversa (Lindberg *et al.* 1979) del cargadero de mineral y de los propios hornos de Almadenejos –altitud entre 498 y 509 m- y la disposición de la parcela AM(4) como una loma –altitud máxima 500 m- pueda haber favorecido el depósito de mercurio procedente de las actividades desarrolladas en Almadenejos. De hecho, la actividad metalúrgica es la que, en mayor medida, ha contribuido a la dispersión antrópica de mercurio en esta comarca. También es razonable pensar que la forma de mercurio movilizada por la actividad metalúrgica sería mercurio metálico susceptible de transformarse en la atmósfera en mercurio iónico, lo que da lugar a formas más disponibles de este elemento.

La presencia mayoritaria del mercurio en los suelos de la comarca de Almadén es en forma de cinabrio. Esta forma, así como el metacinabrio es muy poco disponible. En general, el mercurio presente en la parcela 5 esta en formas de muy baja disponibilidad como demuestran los análisis de especiación realizados en esa parcela (Bernaus Darbra, 2006), cuando se trata además de muestras superficiales serán muestras expuestas al oxígeno atmosférico, siendo, las formas oxidadas de mercurio, poco disponibles. En el caso de la zona radicular ya podríamos considerar otras condiciones, por un lado que formas más solubles de mercurio fueran percolando hacia la zona radicular, pasando lógicamente por zonas menos aireadas, la presencia de mercurio disponible en la zona radicular justifica la descripción de plantas acumuladoras de mercurio encontradas en esta parcela (Molina *et al.* 2006; Millán *et al.* 2006).

Como resumen concentraciones naturalmente altas de mercurio, antrópicamente magnificadas en aquellas parcelas donde se han realizado actividades mineras o minero-

metalúrgicas, estas últimas contribuyendo a la distribución atmosférica de mercurio, pero en general el mercurio en muestras superficiales en forma poco disponible.

Otros metales en los suelos de Almadén.

Las explotaciones minero-metalúrgicas relacionadas con el mercurio no han sido las únicas en la comarca de Almadén, encontrándose en la zona de estudio emplazamientos donde se explotó Pb y Zn, como la instalación minera y metalúrgica ubicada en el paraje denominado “Quinto del Hierro”. Por ello se analizaron estos metales, así como Cadmio y Níquel, en las muestras correspondientes a las campañas de la primavera de 2007 y primavera de 2008. Los datos obtenidos se incluyen en la tabla 8. Los valores en rojo indican que se supera el límite marcado en el RD 1310/1990 (BOE 1990).

Tabla 8.- concentración de metales pesados.

Muestra	Metales pesados Ni, Pb y Zn (mg g ⁻¹)		
	Ni	Pb	Zn
LIMITE	0,11	0,30	0,45
DP(6.5)	0,04	0,17	0,13
DP(6.3)	0,03	0,24	0,10
DP(6.1)	0,04	0,23	0,08
AM(3c)	0,04	3,49	0,14
AM(3b)	0,28	48,11	1,07
AR(S)	0,02	0,09	0,09
AR(7.10)	0,02	0,06	0,02
AR(7.7)	0,02	0,11	0,04
AR(7.4)	0,02	0,08	0,02
AR(7.1)	0,02	0,08	0,04
AM(4.5)	0,18	0,21	0,13
AM(4.4)	0,17	0,28	0,12
AM(4.3)	0,18	0,27	0,14
AM(4.2)	0,17	0,25	0,11
AM(4.1)	0,18	0,31	0,16
AM(9.4)	0,03	0,12	0,10
AM(5.6)	0,06	0,11	0,07
AM(5.4)	0,10	1,44	0,14
AM(5.2)	0,07	0,09	0,10
BM(8.3)	0,03	0,11	0,03
BM(8.2)	0,05	0,07	0,02

Celdas sombreadas en rojo y con negrita sobrepasan valor límite RD 1310/1990

Los valores de los fondos naturales geoquímicos son 80 mg kg^{-1} , para Zn; $0,2 \text{ mg kg}^{-1}$ para Cd y 16 mg kg^{-1} para Pb, cuyas formas sulfuradas son: esfalerita (ZnS), geenokita (CdS), y galena (PbS). Para Zn y Pb en todos los casos las concentraciones encontradas son superiores a los fondos mencionados.

El contenido en Cd siempre estuvo por debajo de los límites de detección. En otros trabajos sobre el contenido en metales en la zona de Almadén, en este caso en instalaciones metalúrgicas peri urbanas también encontraron que el contenido en Cd estaba por debajo del límite de detección (Conde Bueno *et al.* 2009).

En escombreras metalúrgicas, peri urbanas en Almadén, se han descrito (Conde Bueno *et al.* 2009) valores de Pb entre $0,001$ y $1,01 \text{ mg g}^{-1}$, menores que los que se indican en la tabla 8. Los valores de Ni que describen estos autores si se aproximan más a los que analizamos, pero siempre se mantienen por debajo del límite establecido en el Real Decreto, en cuanto al Zn no lo analizan. Este elemento si fue analizado en un trabajo realizado en una zona próxima a la zona de muestreo AM(4) (Sánchez *et al.* 2005) obteniendo concentraciones de Zn en los horizontes Ap y Ah de $0,25 \text{ mg g}^{-1}$, por debajo del límite del Real Decreto, aunque relativamente altos comparándolos con los valores encontrados en este trabajo en la parte alta de la misma parcela.

Si usamos como referencia de valores límite de concentración de metales pesados en suelos el RD 1310/1990 (BOE 1990), para suelos con pH mayor de 7 (en Almadén sólo 6 de 42 valores de pH analizados están por encima de 7), los límites se establecen en: $450 \text{ mg Zn kg}^{-1}$; $112,0 \text{ mg Ni kg}^{-1}$ y $300 \text{ mg Pb kg}^{-1}$. La concentración de estos metales como porcentaje del límite mencionado se representa en los gráficos de las Figura 60, para Pb y 61 para Ni y Zn.

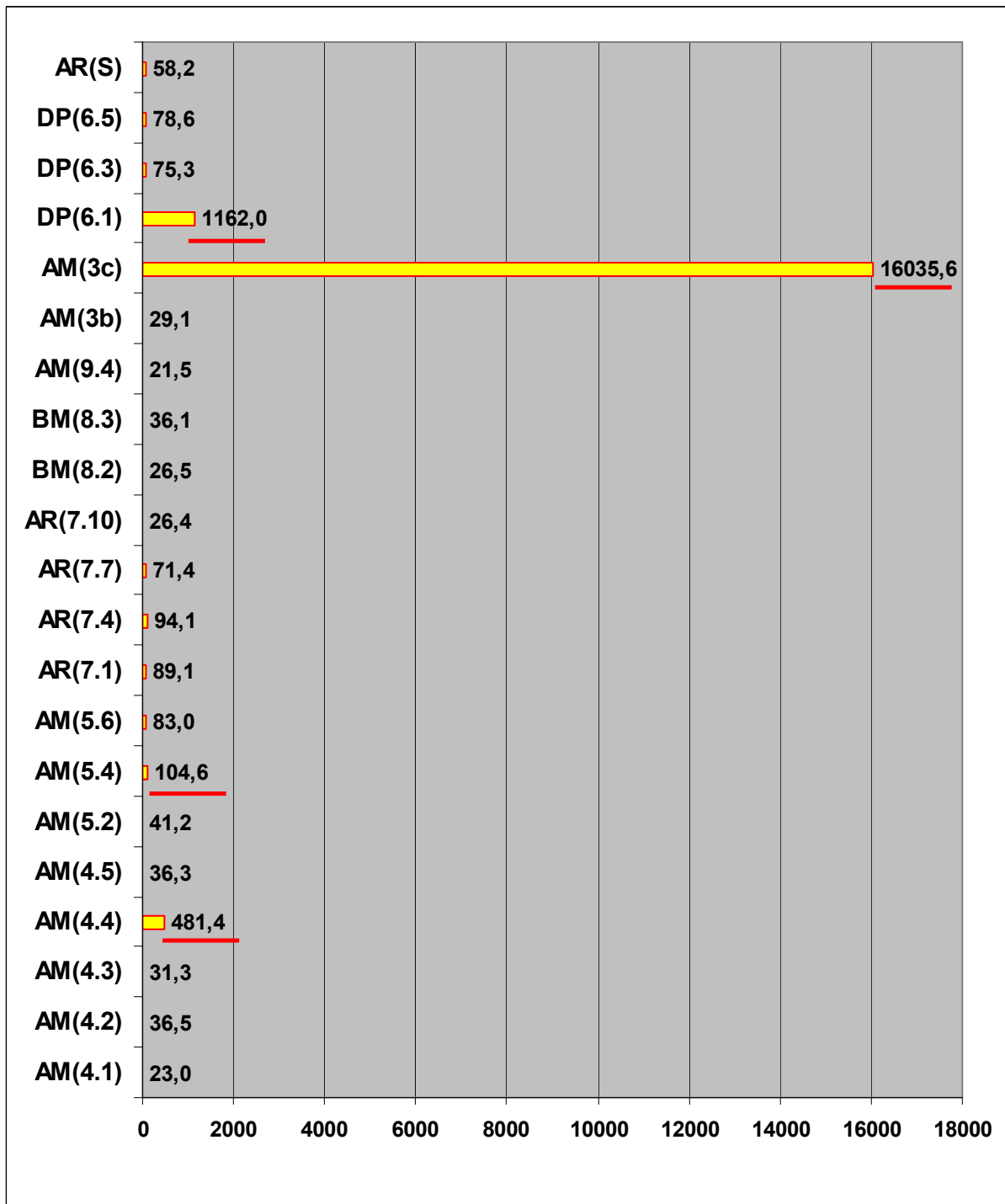


Figura 60. - Concentración de Pb en porcentaje del límite (RD. 1310/1990).

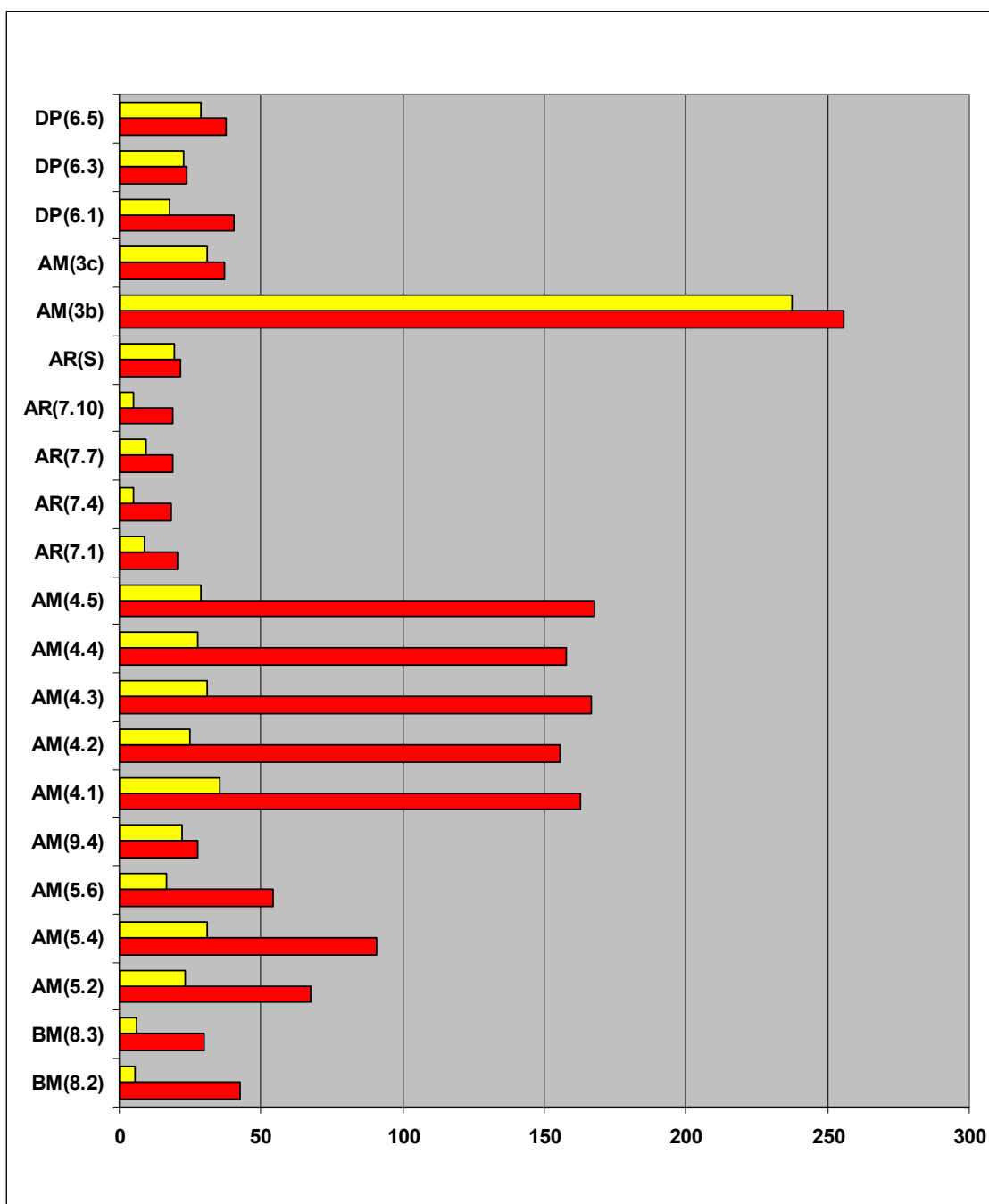


Figura 61.- Concentración de Ni, barras amarillas, y Zn, barras rojas, en porcentaje del límite (RD. 1310/1990).

El dato más relevante de los obtenidos en este apartado es el de concentración de Pb en la parcela AM(3b). Resulta especialmente revelador el hecho de que esta parcela está muy próxima a la Mina y a los Hornos del Quinto del Hierro, donde se trabajó en minería y metalurgia del Pb y del Zn (Blanco Farga *et al.* 1997), pero AM(3b) es una tierra de labor, claramente diferenciada de la zona donde están las ruinas de aquellas instalaciones y que corresponde con el punto de muestreo AM(3c).

En resumen, se han obtenido valores extraordinariamente elevados de Pb en una parcela de uso agrícola. Valores elevados, pero explicables, en las parcelas con ruinas de metalurgia y posible influencia de la metalurgia en el depósito de níquel en la parcela AM(4), pero la concentración de estos metales en la parcela AM(3b) es especialmente preocupante, por un lado son concentraciones muy altas y, por otro lado, no parece haber una buena razón que justifique su presencia en esa dehesa dedicada al cultivo de cereal.

IV.3.- Actividad biológica en los suelos de Almadén.

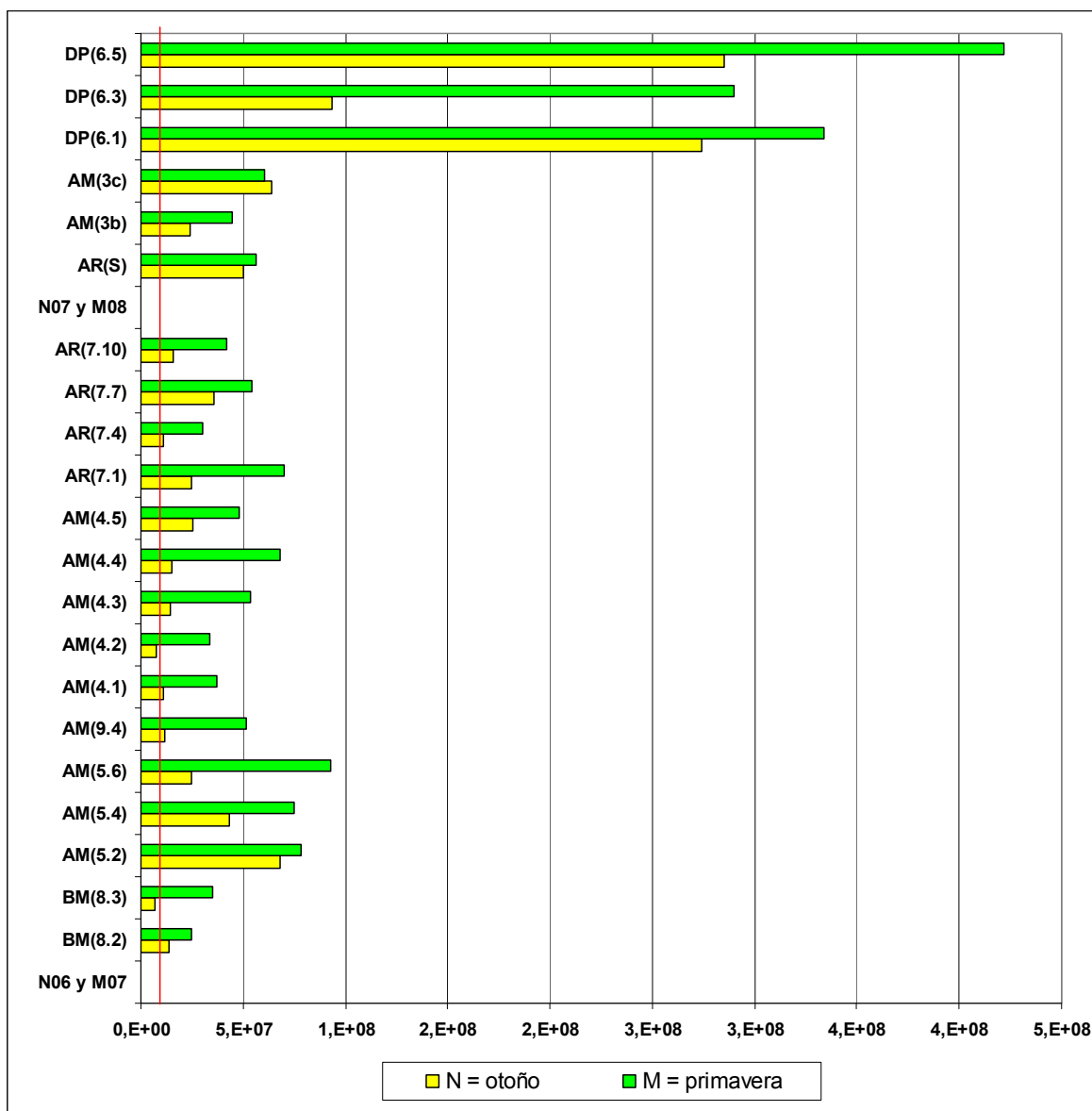
IV.3.1- Recuentos microbiológicos.

Los resultados que se incluyen en este apartado corresponden a:

- Bacterias heterótrofas totales (BHT).
- Actinomicetos (ACT).
- Relación heterótrofos totales/actinomicetos.
- Bacterias reductoras del azufre (BSR).

Heterótrofos totales (BHT) y actinomicetos.

El recuento de bacterias aerobias heterótrofas, según el número más probable (NMP), ofrece valores que oscilan entre $6,7 \times 10^6$ BHT por gramo de suelo seco, en el punto BM(8.3) en otoño de 2006 y $4,2 \times 10^8$ BHT por gramo de suelo seco en el punto DP(6.5) en la primavera de 2008. Un valor medio convencional podría situarse alrededor de 7×10^6 bacterias por gramo de suelo seco (Alexander 1980). Los recuentos obtenidos en Almadén indican que, en general, las poblaciones de bacterias aerobias heterótrofas son elevadas. Las poblaciones más altas se han encontrado en la dehesa de pasto DP(6) y también se obtienen valores relativamente altos en los hornos de Almadenejos AM(5). Por otro lado, los valores más bajos en las dos últimas campañas de muestreo corresponden a AM(3b) y AR(S) y en las dos primeras campañas a la parcela AM(4) y el punto BM(3) en la campaña de otoño. La variable presenta coeficiente de correlación alto y positivo con las variables asociadas a la materia orgánica.

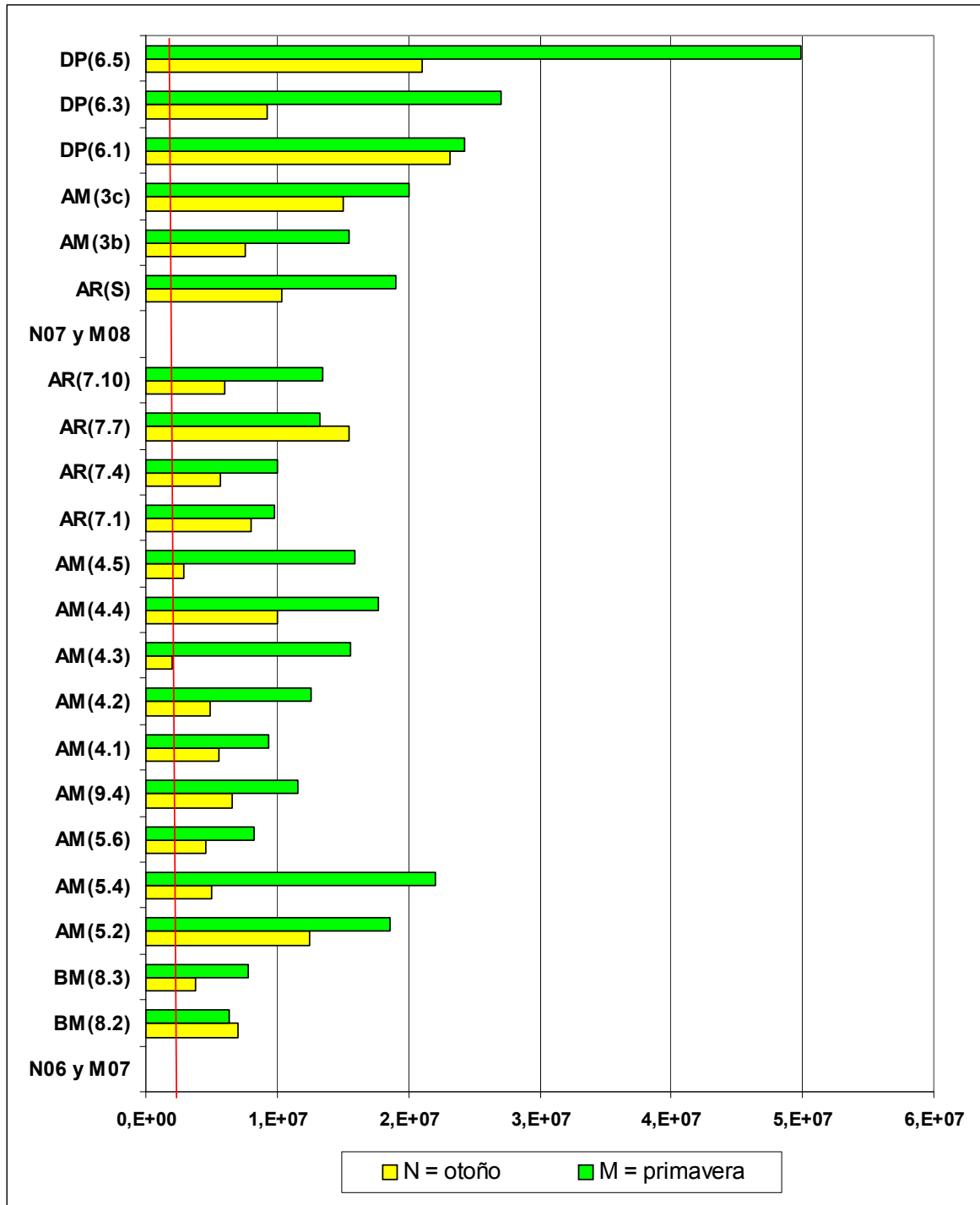


(*) La línea roja es el valor medio de 7×10^6 BHT (Alexander, 1980)

Figura 62.- Heterótrofos totales (BHT g⁻¹).

La población de actinomicetos (ACT) (Fig. 63), oscila entre 2×10^6 y 5×10^7 ACT por gramo de suelo, al igual que ocurría con los heterótrofos totales, el número total parece relativamente elevado comparado con un estándar que podría cifrarse en 2×10^6 bacterias por gramo de suelo seco (Alexander 1980). La distribución de los valores de actinomicetos tiene un perfil similar a la de heterótrofos totales, valores más altos en DP(6) y AM(5) y más bajos en AM(4). También la correlación de actinomicetos sigue el mismo patrón que la de heterótrofos totales, es también alta y positiva con los

propios heterótrofos y con el resto de variables asociadas a la materia orgánica de los suelos.



La línea roja es el valor medio de 2×10^6 ACT g^{-1} (Alexander, 1980)

Figura 63.- Actinomicetos (UFC g^{-1}).

Relación BHT/ACT.

Los valores de la relación entre heterótrofos totales y actinomicetos se presentan en la Figura 64.

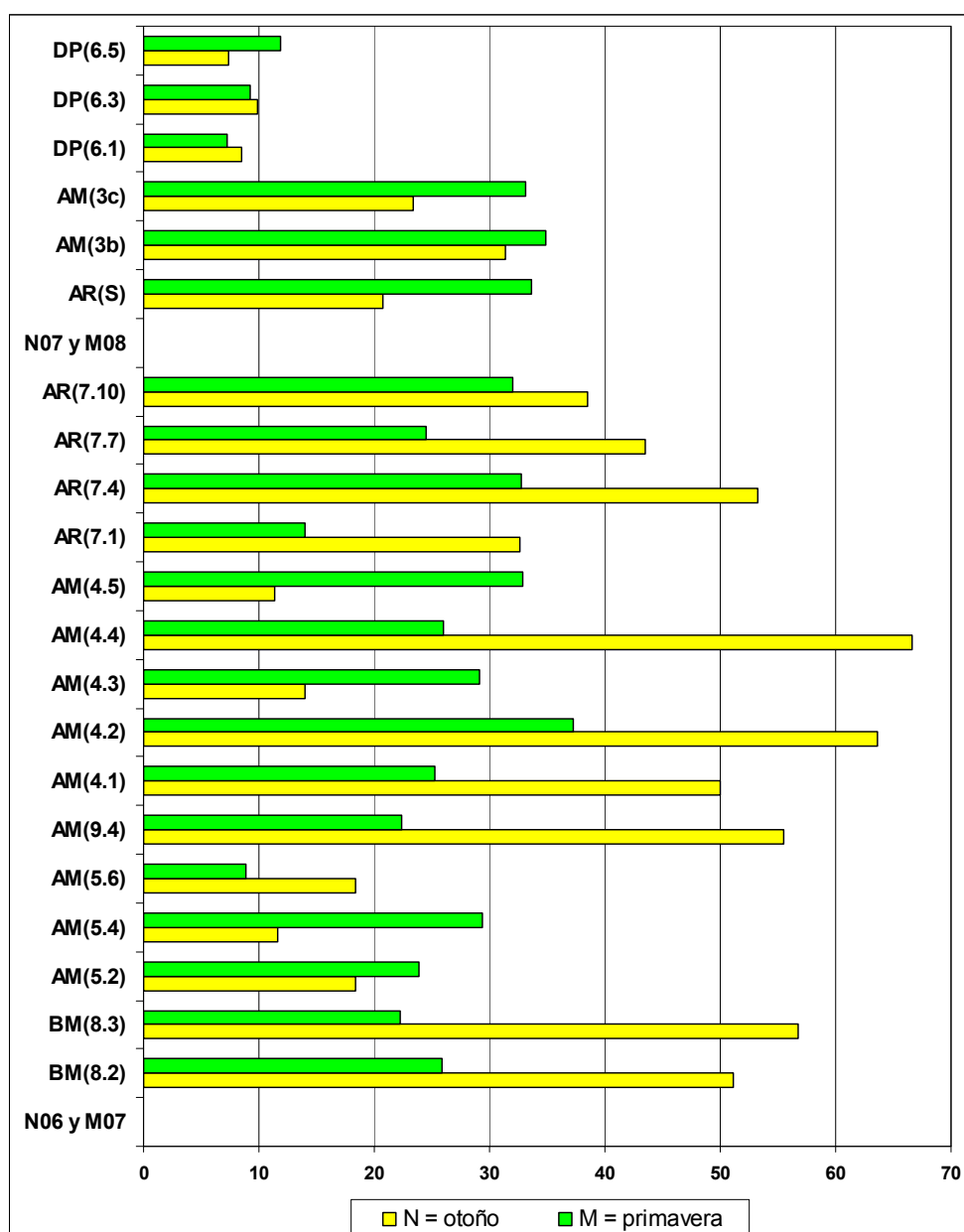


Figura 64.- Relación BHT/ACT como % de ACT en BHT.

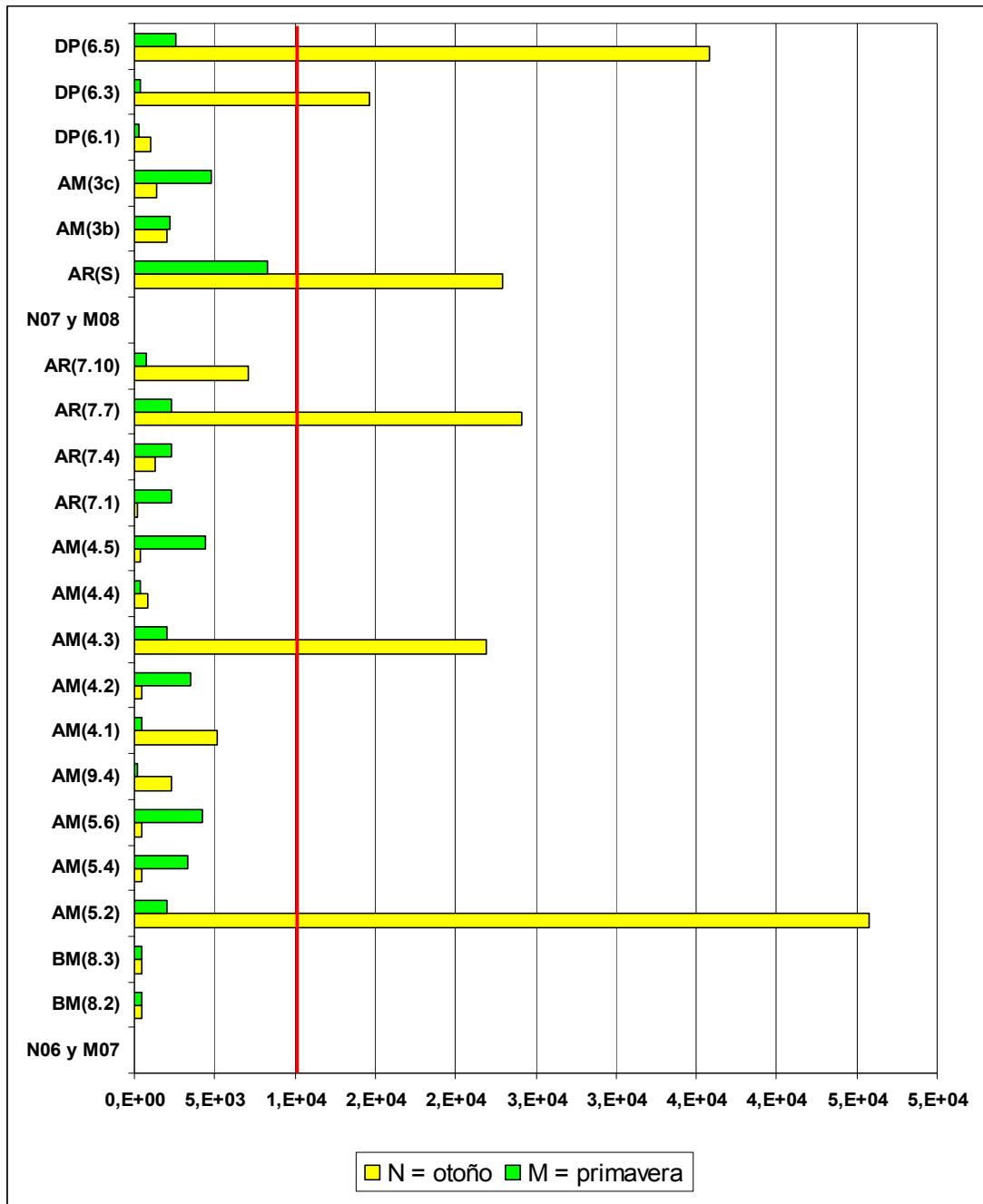
Los valores considerados más frecuentes en suelos fluctúan entre 2 y 10 (Alexander 1980) que, en porcentaje correspondería a valores entre el 10 y el 50% de actinomicetos, en relación a la población bacteriana total. Dicho porcentaje puede elevarse hasta el 90% en determinados suelos alcalinos. Los valores más altos de la relación se encuentran en las muestras de otoño de 2006, con 7 valores por encima del 50%, en AM(9.4) y BM(8) y con algunos puntos de otras parcelas, concretamente AM(4.4) y

AR(7.4). Los valores más bajos se encuentran en DP(6) y en AM(5), precisamente en dos parcelas donde las condiciones para la actividad microbiológica parecen más favorables y los valores, tanto de heterótrofos totales como de actinomicetos, son altos, aunque son relativamente mayores los valores de heterótrofos que los de actinomicetos, quizá reflejo de que las condiciones de crecimiento favorecen más a microorganismos que puedan tener un comportamiento oportunista en el aprovechamiento de los recursos.

Bacterias reductoras de sulfato (BRS).

El número de BRS (Fig, 65) debería ser en condiciones aeróbicas, menor de 1×10^4 por gramo de suelo (Alexander 1980). Sin embargo, encontramos en algunos casos valores especialmente altos como el de otoño de 2006 para el punto AM(5.2); ese valor y otros de los más elevados parecen ser valores puntuales y quizá accidentales, ya que, en general, los suelos van a estar bien aireados lo que dificulta la proliferación de bacterias anaerobias en particular y la aparición de condiciones reductoras en general.

La importancia de las bacterias reductoras del sulfato en una zona como Almadén, rica en mercurio, radica en que son estas bacterias las que incorporan la capacidad de metilar y desmetilar mercurio (Barkay *et al.* 2003). No obstante la elevada concentración de mercurio en todas y cada una de las muestras de Almadén, es factible pensar en que no está en forma iónica, que es la forma metilable del mercurio, ni en forma metilada. Los resultados obtenidos para BRS no presentan correlación significativa con el resto de variables estudiadas. Sería razonable que presentara una correlación positiva con el contenido en humedad de las muestras, pero seguramente la humedad del suelo no haya conducido a la aparición duradera de condiciones anaerobias, lo que puede explicar la falta de correlación entre BRS y humedad. Con el mercurio total puede ocurrir lo mismo, el mercurio en Almadén esta, de forma natural, mayoritariamente en forma de cinabrio, poco disponible y además no es susceptible, en esa forma, de metilación. A pesar de que el potencial de metilación y demetilación exista como se ha descrito (Gray *et al.* 2004), no parece que en muestras superficiales bien aireadas y con formas poco solubles de mercurio, la actividad metilante del mercurio sea elevada.



La línea roja es el valor medio de 1×10^4 BRS g^{-1} (Alexander, 1980)

Figura 65.- Bacterias reductoras de sulfato (UFC g^{-1}).

IV.3.2.- Variables de la actividad microbiológica.

En esta apartado se incluyen los resultados correspondientes a:

- Carbono de la masa microbiana obtenido por fumigación – extracción (FE).
- Carbono de la masa microbiana estimado por respirometría inducida por sustrato (SIR).
- Respirometría basal.
- Cociente metabólico.
- Tasa máxima de respiración.
- Relación C_{mic}/C_{org} .

Carbono de la masa microbiana obtenido por Fumigación Extracción.

Los datos del Carbono microbiano obtenido por Fumigación-Extracción, C_{mic} (FE), están comprendidos dentro del rango de valores con los que se describió el método (entre 133 y 2.711 mg C_{mic} kg⁻¹) (Vance *et al.* 1987). Los valores obtenidos (Fig. 66) en las muestras de Almadén oscilan entre 223 y 1.295 mg C_{mic} kg⁻¹, algo más altos de los obtenidos en otros suelos semiáridos mediterráneos, donde se han obtenido valores de 25 a 650 mg C_{mic} kg⁻¹, si bien eran suelos alcalinos y con muy poco carbono orgánico (García *et al.* 1994). Sin embargo están más próximos a los obtenidos en suelos forestales ácidos de regiones más templadas de la Península Ibérica, donde se han registrado valores entre 360 y 1120 mg C_{mic} kg⁻¹ (Díaz-Raviña *et al.* 1988), por lo que parece que los valores de masa microbiana determinados por fumigación-extracción en Almadén puede situarse en un rango de valores esperables en la Península Ibérica.

Los valores más altos de carbono microbiano (FE) corresponden a la parcela AM(5), el cerco de los hornos de Almadenejos, seguido por el punto de muestreo AM(9.4) en la escombrera de El Entredicho. En estas dos parcelas es donde se encuentran los valores más altos de mercurio total analizados. Los valores correspondientes al bosque mediterráneo, BM(8) son similares a los descritos en suelos semiáridos (García *et al.* 1994). Las parcelas que menos masa microbiana presentan son las parcelas AM(4) y AR(7). Esta última fue arada en un periodo inmediatamente anterior al muestreo de noviembre de 2006.

Considerando sólo los datos de esta campaña, la única en la que se realizó el ensayo $C_{mic}(FE)$, la variable masa microbiana, tanto la obtenida por fumigación-extracción como la obtenida por respirometría inducida por substrato, presenta una correlación muy elevada con el carbono soluble en agua caliente (HWSC), pero el coeficiente de correlación de Pearson entre $C_{mic}(FE)$ y HWSC es más elevado, ($r = 0,97$) que el coeficiente de correlación entre $C_{mic}(SIR)$ y HWSC ($r = 0,74$).

Los valores más bajos de HWSC se obtuvieron en AR(7.10) y AR(7.7). Valores bajos de HWSC parecen implicar valores también bajos de carbono extraíble con K_2SO_4 y, como consecuencia, valores relativamente bajos de $C_{mic}(FE)$, esta situación podría explicar, en parte, que los valores de $C_{mic}(FE)$, representando el carbono de la biomasa microbiana total, sean menores que los obtenidos en esos mismos puntos con $C_{mic}(SIR)$, que representa sólo el carbono de la biomasa microbiana activa.

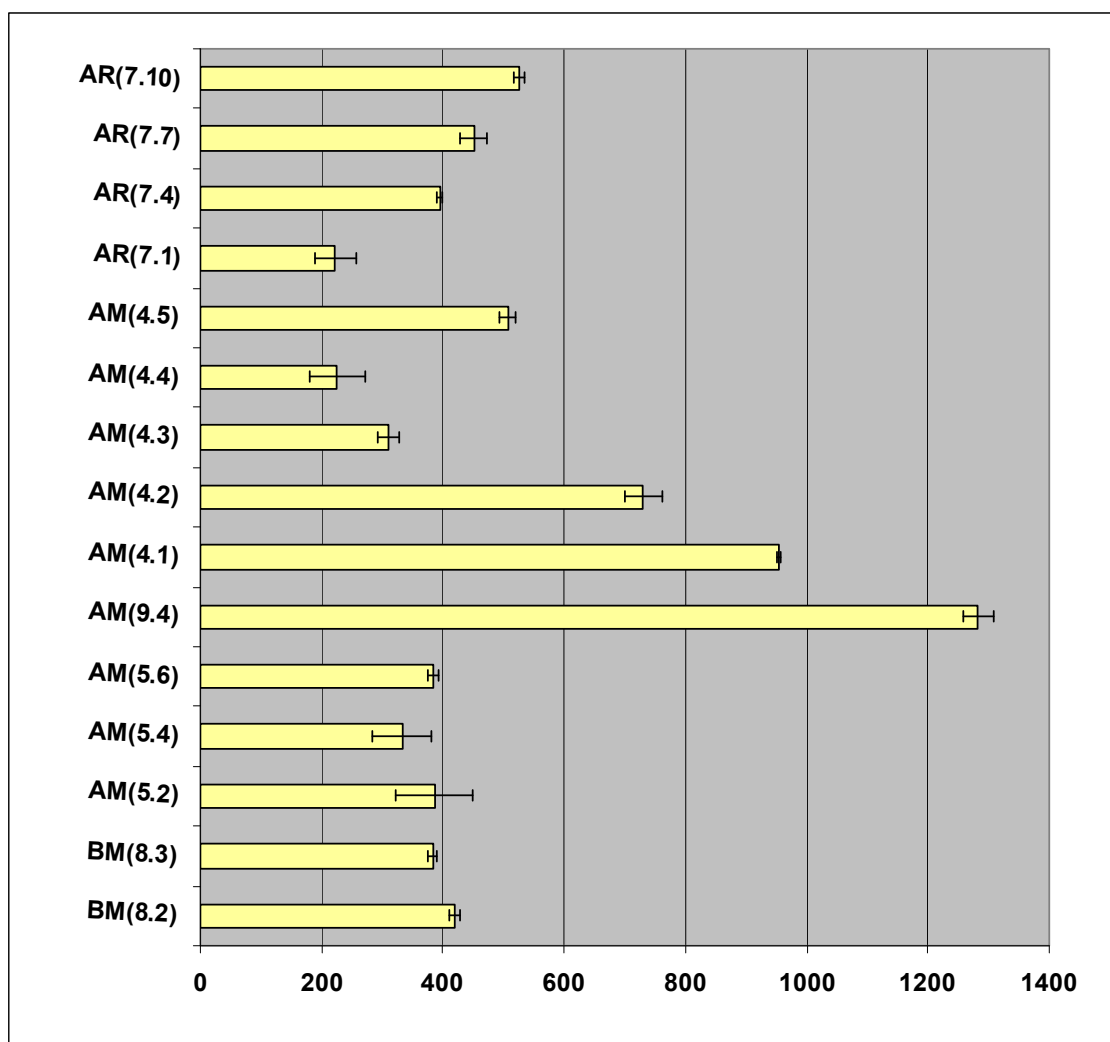


Figura 66.- Carbono de la masa microbiana obtenido por fumigación-extracción, C_{mic} (FE), en mg $C_{mic} kg^{-1}$.

Carbono de la masa microbiana estimado por respirometría inducida por sustrato (SIR).

Los valores de masa microbiana obtenida por respirometría inducida por sustrato se presentan en la Figura 67. El método original (Anderson y Domsch 1978) se describió, para suelos de uso agrícola o forestal, con un rango de valores de estimación de masa microbiana comprendido entre 150 y 2400 mg $C_{mic} Kg^{-1}$. El rango de valores de carbono microbiano obtenido por respirometría inducida por sustrato (C_{mic} (SIR)) de los lugares de estudio de Almadén, oscila entre 117,5 y 2104,47 mg $C_{mic} kg^{-1}$.

En este apartado explicaremos porque hay algunos valores de C_{mic} (SIR) que son más elevados que los obtenidos por C_{mic} (FE). En aquella campaña los valores más altos de

respirometría basal se obtuvieron en AR(7.7) y AR(7.4). Esta situación pudo llevar a una sobreestimación de la respirometría inducida por sustrato, precisamente en muestras que presentaban un contenido más bajo en carbono soluble en agua caliente (HWSC), que tiene una correlación alta con el $C_{mic}(FE)$. Es decir en las mismas muestras coincidieron una condición que podría implicar una estimación un poco más elevada de $C_{mic}(SIR)$ y una estimación un poco más baja de $C_{mic}(FE)$.

Los valores de $C_{mic}(SIR)$, en la parcela de los Hornos de Almadenejos AM(5), oscilan entre 483,9 y 1.352,2 mg $C_{mic} \text{ kg}^{-1}$. La mediana de los valores de masa microbiana obtenidos por SIR en esas campañas fue de 490 mg $C_{mic} \text{ kg}^{-1}$, $n = 30$. De los seis valores obtenidos en la parcela sólo uno se encuentra por debajo, pero muy cerca, del percentil 50.

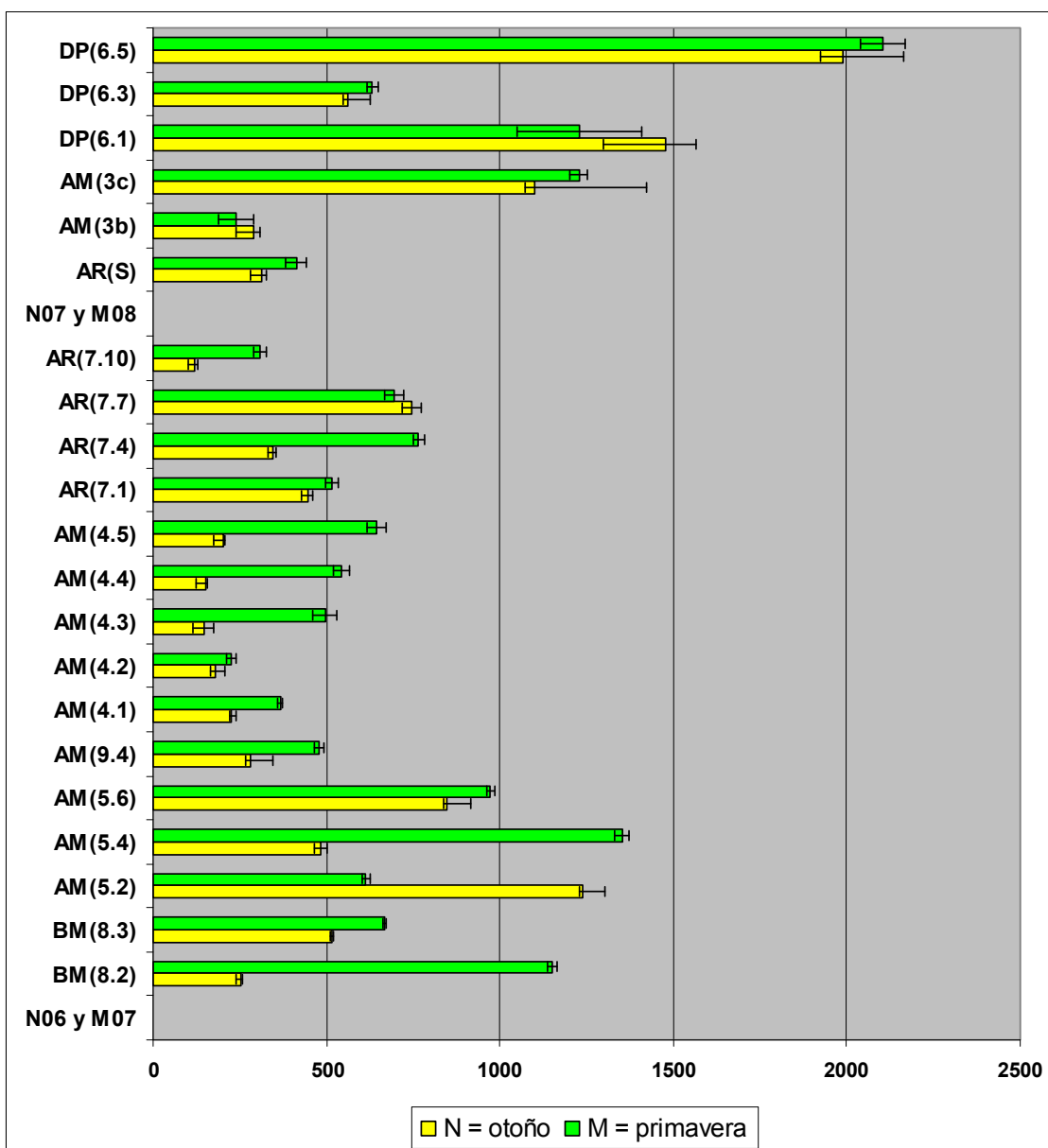


Figura 67.- Carbono de la masa microbiana obtenido por respirometría inducida por substrato $C_{mic}(SIR)$ ($mg C_{mic} kg^{-1}$).

Variabilidad de los valores de masa microbiana C_{mic} (SIR) según la época de muestreo.

Aunque los valores de C_{mic} (SIR) en primavera parecen más altos que los obtenidos en otoño, tal como se aprecia en el gráfico de la Figura 68, no se aprecian diferencias estadísticamente significativas en los valores de C_{mic} (SIR) según la época de muestreo.

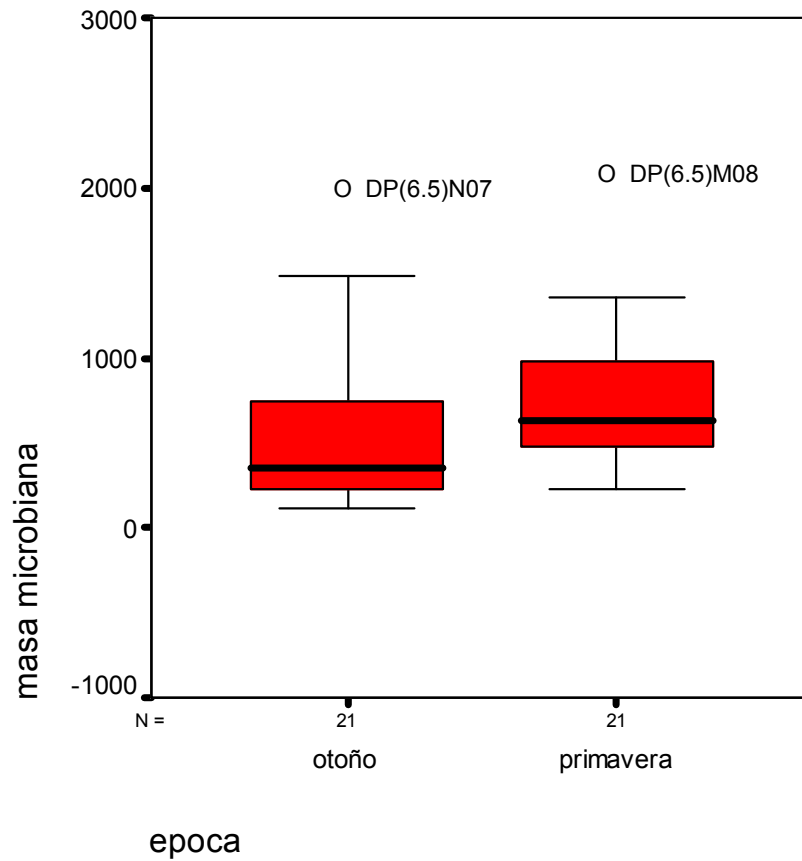


Figura 68.- Diagrama de caja, distribución valores de masa microbiana C_{mic} (SIR) según la época de muestreo.

Variabilidad de los valores de masa microbiana C_{mic} (SIR) según el uso del suelo.

Los valores de C_{mic} (SIR) obtenidos en la dehesa de pasto son más altos que los encontrados para cualquiera de los otros usos (Fig. 69), aunque no existen diferencias significativas para C_{mic} (SIR) según el uso del suelo (ANEXO I).

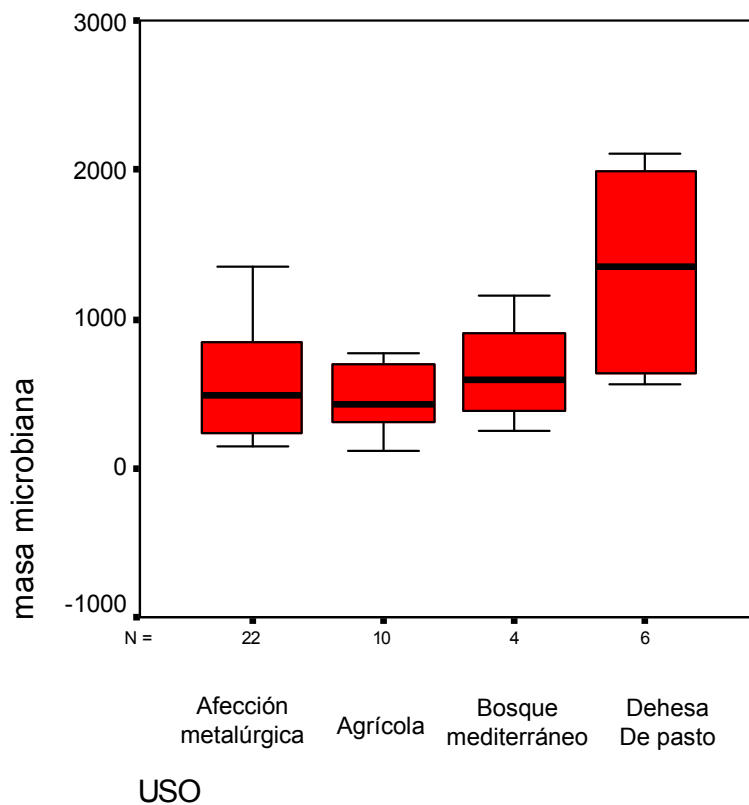


Figura 69.- Diagrama de caja, distribución valores de masa microbiana (C_{mic} (SIR)) según el uso del suelo.

Respirometría basal.

Los valores obtenidos muestran un máximo en DP(6.1) en otoño de 2007 con $23,65 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ y un mínimo con $1,15 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ en AR(7.1) en otoño de 2006 (Fig. 70). Los valores más altos de respirometría se han encontrado en los muestreos de primavera de 2007 y otoño de 2008 con valores más elevados en DP(6), seguidos por AM(3). En esas campañas, excepto en los puntos de muestreo AR(S) y DP(6.3), todos los valores están por encima del percentil 75. En los puntos muestreados en las otras campañas destacan como valores algo mayores los del punto de muestreo AR(7.7), estando el resto de valores de esas campañas por debajo del percentil 50.

Este parámetro nos da una idea de la actividad microbológica en el suelo, pero esta actividad es sensible a muchos factores ambientales. Generalmente, para analizar el estado de un suelo, se utiliza la relación entre la respirometría basal y la masa microbiana, obteniendo así el cociente metabólico que se comentará más adelante. No

obstante la respirometría basal nos debe ofrecer una aproximación a la respiración del suelo en situación estacionaria.

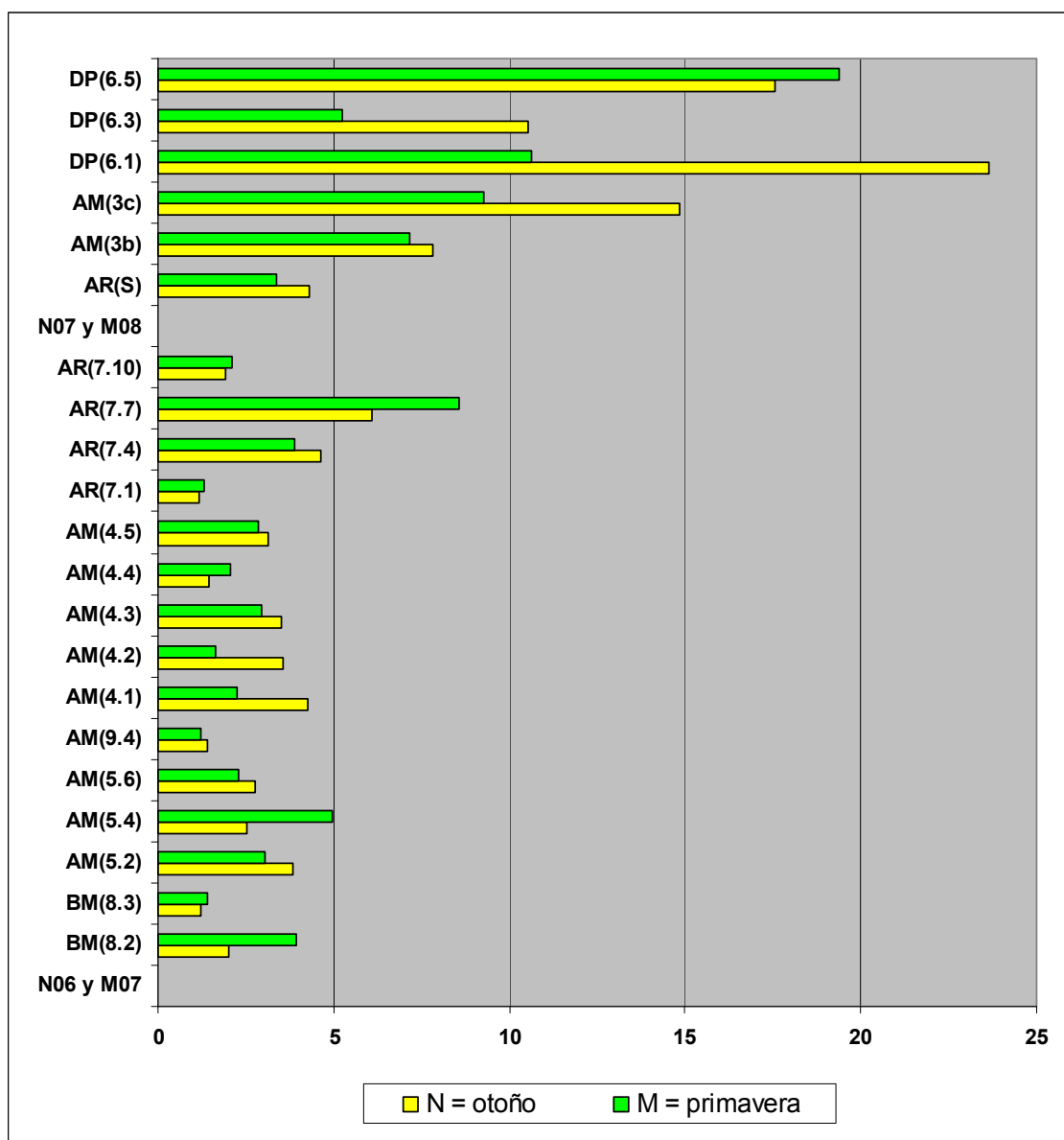


Figura 70.- Respirometría basal ($\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Variabilidad de los valores de respirometría basal según la época de muestreo.

La similitud entre las distribuciones de los valores de respirometría basal según la época de muestreo se puede apreciar en el diagrama de caja, figura 71, no existiendo diferencias estadísticamente significativas.

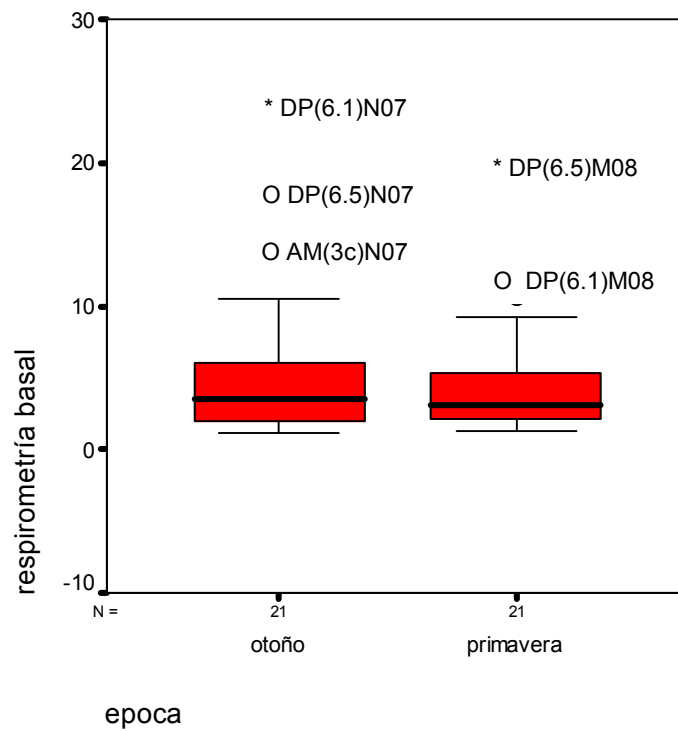


Figura 71.- Diagrama de caja, respirometría basal según la época de muestreo.

Variabilidad de los valores de respirometría según el uso del suelo.

El diagrama de la figura 72 muestra unos valores muy elevados de respirometría basal en el uso dehesa de pasto, en los otros usos los valores son más bajos y la distribución de los mismos muy similar. De hecho, hay diferencias estadísticamente significativas del uso dehesa de pasto con el resto de usos (ANEXO I).

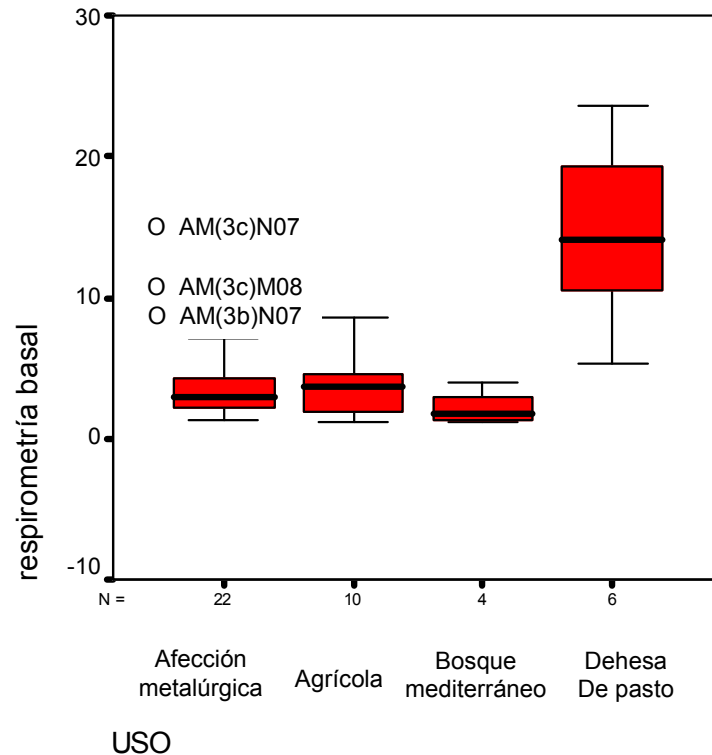


Figura 72.- Diagrama de caja, respirometría basal según el uso del suelo.

Cociente metabólico.

Los resultados obtenidos para el cociente metabólico o $q\text{CO}_2$ se incluyen en el gráfico de la Figura 73 y varían dentro de un intervalo comprendido entre 2,08 y 29,74 $\text{mg C-CO}_2 \text{ g C}_{\text{mic}}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Se ha descrito que la presencia de metales pesados en suelos provoca una disminución de la masa microbiana (Brookes y McGrath 1984; Renella *et al.* 2002), mientras que las tasas de respiración pueden mantener unos valores similares al suelo no contaminado (Barajas-Aceves 2005) o presentar cierto grado de inhibición (Nordgren *et al.* 1988). En todo caso la disminución de la masa microbiana y el mantenimiento, o incluso cierto nivel de inhibición, de la respirometría basal, conducen de forma automática a un aumento del valor de $q\text{CO}_2$, tal como se ha descrito explícitamente (Brookes y McGrath 1984; Dhalin *et al.* 2010). El aumento del $q\text{CO}_2$ se asume debido a que la respuesta de los microorganismos del suelo a la perturbación requiere un gasto de energía que se detrae de los recursos que se emplearían en el propio aumento de la biomasa microbiana.

No obstante la presencia de metales pesados en un suelo no necesariamente tiene que reflejarse en el aumento del cociente metabólico. La disponibilidad de los metales para los microorganismos, bien por la forma en que se han incorporado a los suelos, o ya sea por el tiempo transcurrido desde su incorporación hasta la realización del estudio, con la aparición de elementos tales como envejecimiento y aparición de formas resistentes o tolerantes, pueden conducir a que no se obtenga una relación significativa entre el cociente metabólico y el contenido en metales del suelo (Bååth 1989; Brookes 1995; Giller *et al.* 1998; Giller *et al.* 2009).

A pesar de lo expresado en el párrafo anterior, sería esperable que los valores de cociente metabólico fueran más altos en aquellos lugares en los que existen elevadas concentraciones de metales. No obstante, se pueden encontrar valores altos de cociente metabólico por situaciones ambientales que no impliquen una perturbación del subsistema edáfico, uno de los factores a considerar es la estación que corresponde al muestreo (Anderson 2003), como en el área mediterránea existen dos máximos de actividad biológica, en primavera y en otoño (García Álvarez 1989), el diseño experimental de este trabajo incluye el muestreo en ambos momentos, para evitar obtener un valor marcado por la estacionalidad. Adicionalmente, si el valor de cociente metabólico es debido a una perturbación del suelo, lo razonable sería esperar valores altos en los dos momentos de muestreo, lo que ocurre sólo en el punto AM(3b), la dehesa que tiene un uso agrícola y que, en este estudio, ha sido tipificada como afectada por metalurgia por su contenido en metales pesados.

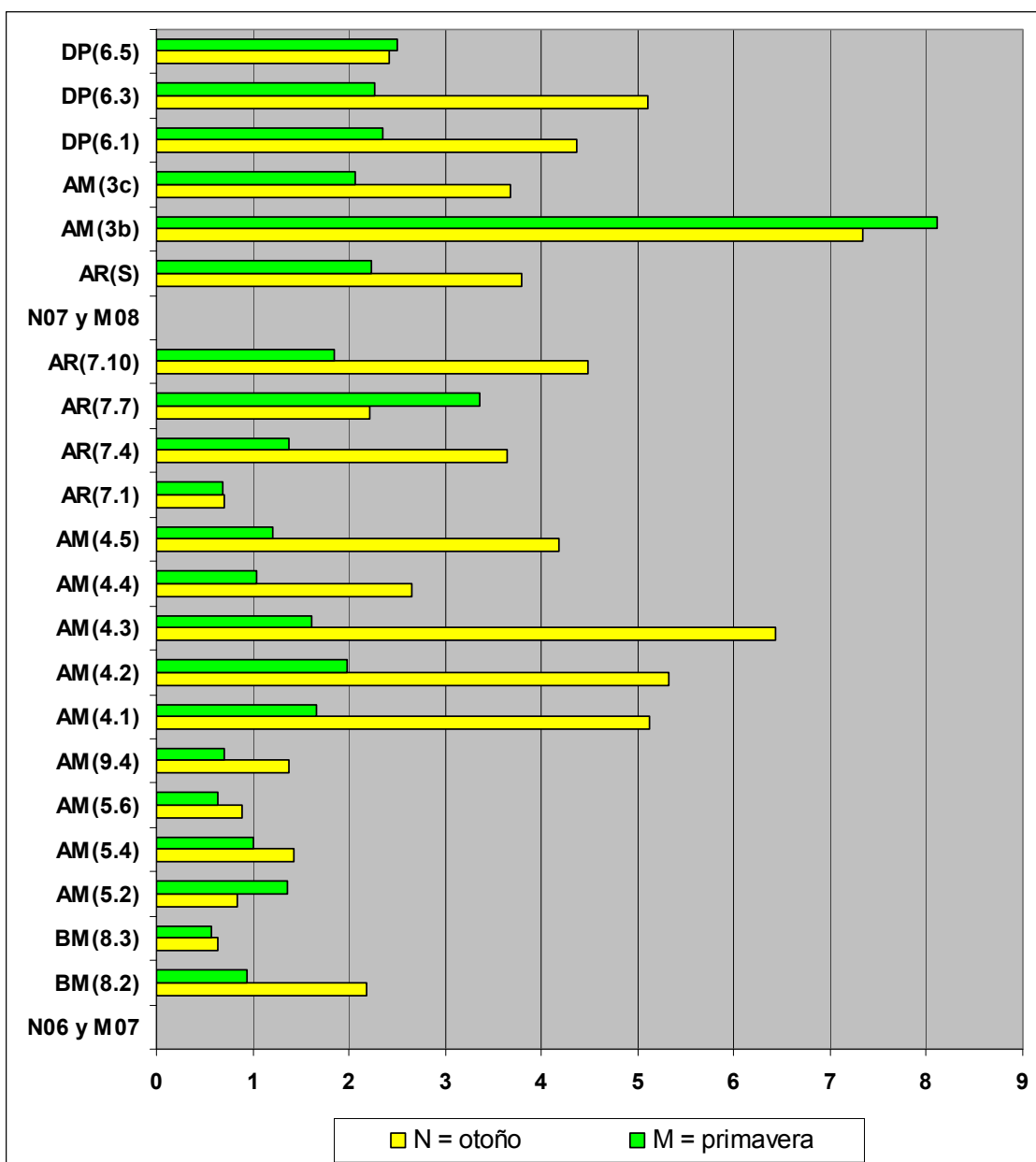


Figura 73.- Cociente metabólico (mg C-CO₂ g C_{mic}⁻¹ h⁻¹).

Variabilidad del cociente metabólico según la época de muestreo.

Existen diferencias estadísticamente significativas para cociente metabólico según la época de muestreo (ANEXO I), siendo valores más elevados (Fig. 74) los obtenidos en las muestras de otoño frente a las de primavera.

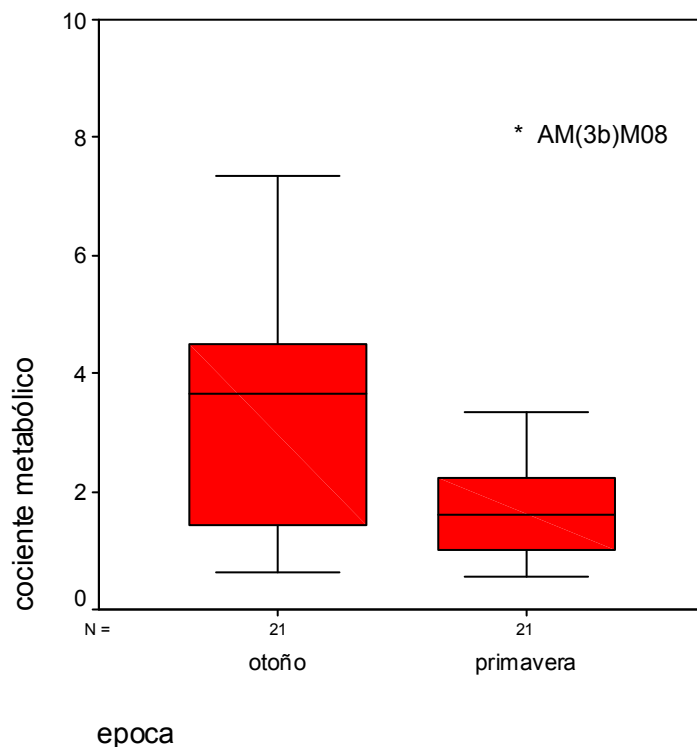


Figura 74.- Diagrama de caja, cociente metabólico según la época de muestreo.

Variabilidad del cociente metabólico según el uso del suelo.

En este caso encontramos resultados contradictorios en los test robustos (ANEXO I), adicionalmente el test de Games Howell indica diferencias estadísticamente significativas entre los usos dehesa de pasto y bosque mediterráneo. Estos dos usos muestra la mayor diferencia en sus medianas (Fig. 75).

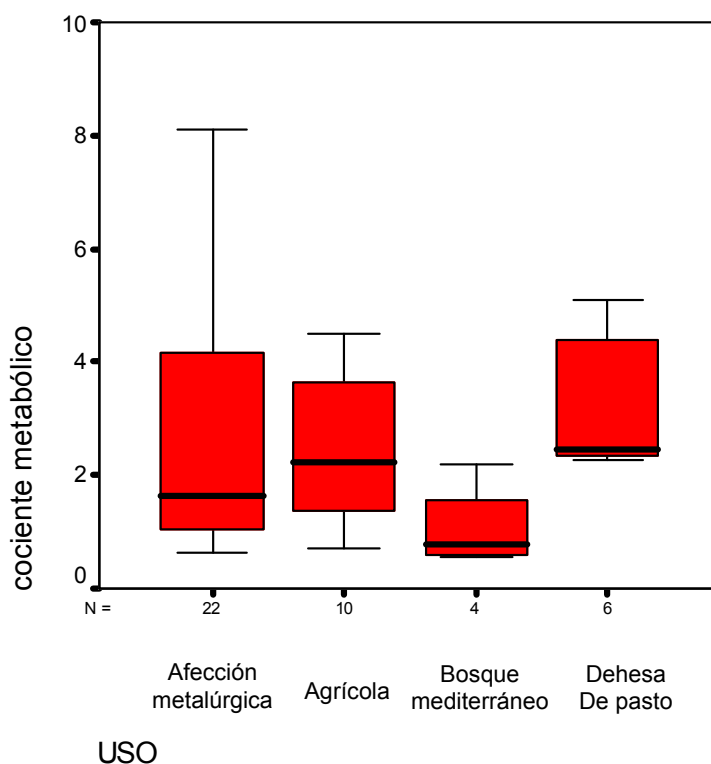


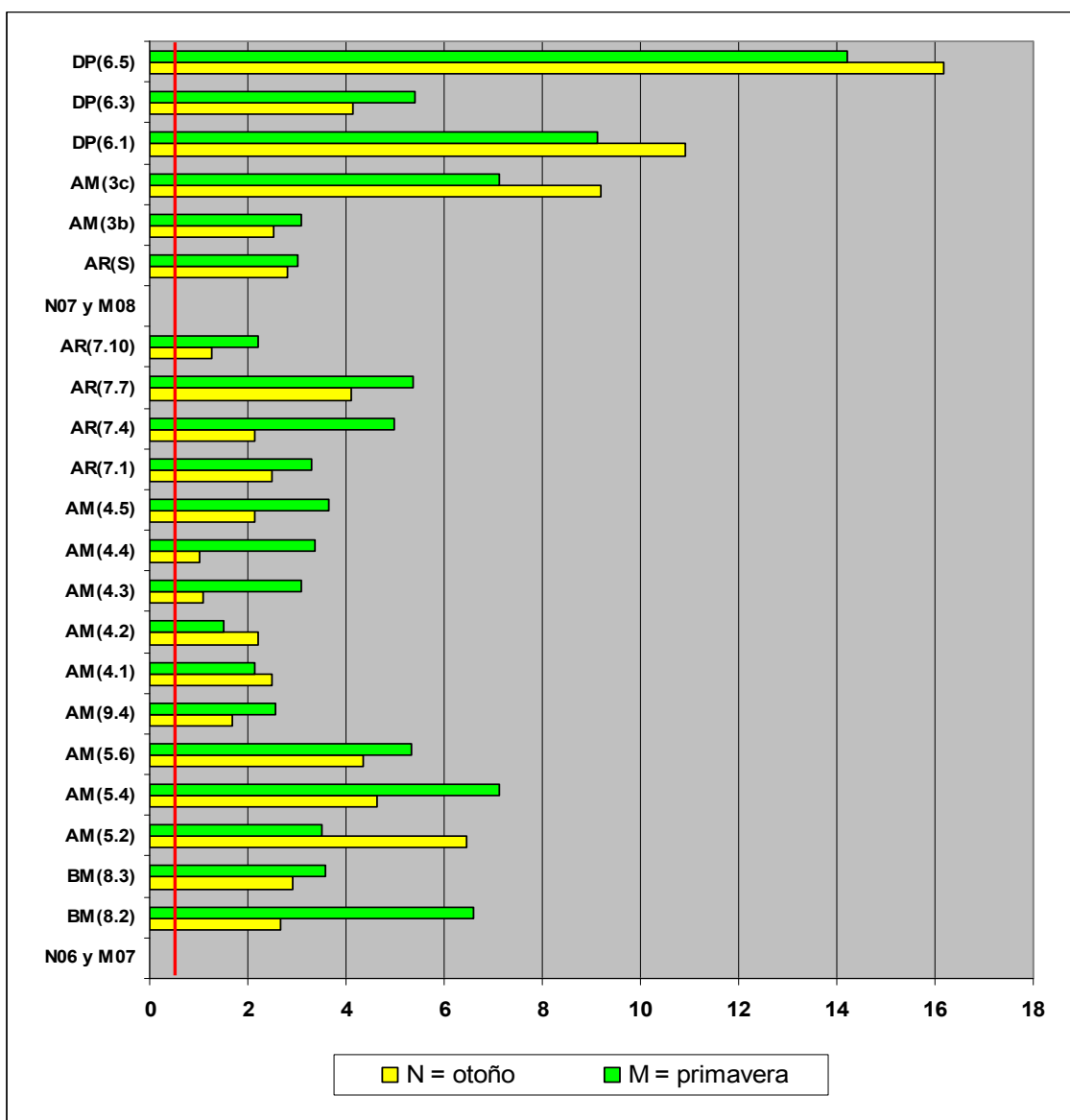
Figura 75.- Diagrama de caja, cociente metabólico según el uso de suelo.

Tasa máxima de respiración.

Se ha obtenido un rango de valores de tasa máxima de respiración (Fig. 76) desde 1,00 hasta 16,17 mg CO₂ h⁻¹ 100 g⁻¹. Generalmente, los resultados obtenidos en la primavera del año 2007 y el otoño de 2008 presentan valores más altos que los analizados en las dos campañas anteriores.

La distribución de valores por puntos de muestreo tiene un perfil muy similar al que pueda presentar la respirometría basal o la masa microbiana, de hecho también la tasa máxima presenta índices de correlación elevados y positivos con las variables relacionadas con la materia orgánica de los suelos.

El valor asignado como tasa máxima de respiración es el obtenido en la última tasa horaria del ensayo C_{mic} (SIR). En ningún caso de las muestras analizadas el valor ha sido inferior al valor de referencia indicado para el test denominado “inhibición de la respirometría” propuesto por (Dott 1995). El test también indica el posible acondicionamiento de la muestra con nutrientes y su valor de referencia en cuanto a la producción de CO₂ ≥ 0,5 mg CO₂ h⁻¹ 100 g⁻¹.



La línea roja es el valor de referencia OCDE (Dott, 1995)

Figura 76.- Tasa máxima de respiración (mg CO₂ h⁻¹ 100 g⁻¹)

Variabilidad de la tasa máxima según la época de muestreo.

Aunque los valores de tasa máxima de respiración parecen algo mayores en primavera que en otoño (Fig. 77). No existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa máxima de respiración según la época de muestreo.

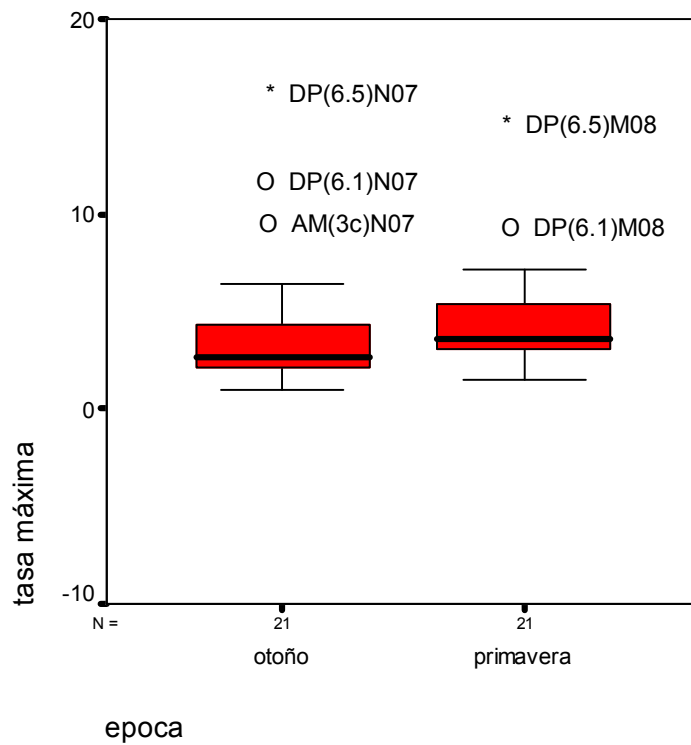


Figura 77.- Diagrama de caja, tasa máxima de respiración según la época de muestreo.

Variabilidad de la tasa máxima según el uso de suelo.

Los valores de tasa máxima de respiración encontrados en la dehesa de pasto son algo más altos que en el resto de usos (Fig. 78). Aunque las diferencias no se pueden considerar estadísticamente significativas (ANEXO I).

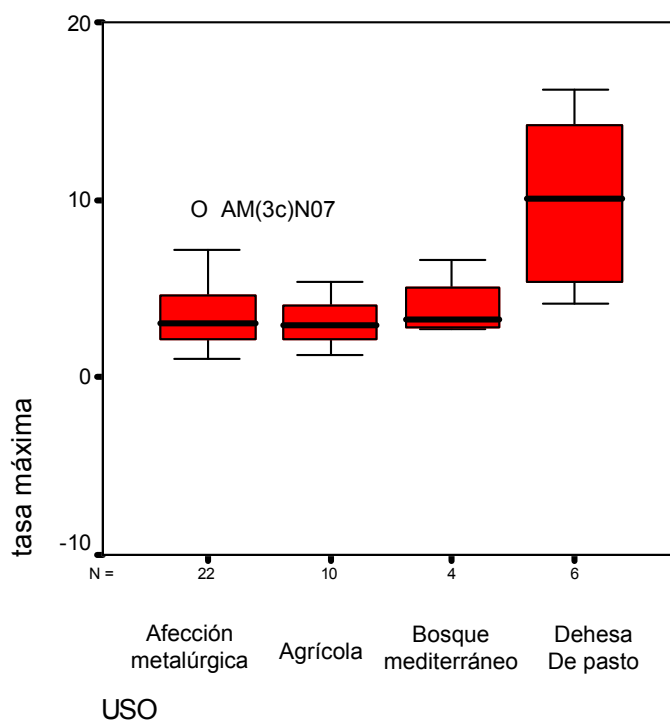


Figura 78.- Diagrama de caja, tasa máxima de respiración el uso del suelo.

Relación C_{mic}/C_{org} .

El rango de valores que se ha obtenido en la relación entre el carbono de la masa microbiana y el carbono orgánico (C_{mic}/C_{org}) (Fig. 79) oscila entre 1,16 y 6,05 g de carbono de origen microbiano por cada 100 g de carbono orgánico total.

Desde los primeros trabajos que hacen referencia a este parámetro (Anderson y Domsch 1989), el valor de C_{org} que se utiliza es el del carbono orgánico total, como ha sido el caso de Almadén. Hay situaciones en las que es necesario buscar una referencia diferente, p.ej. si hay carbono procedente del carbón, tal como ocurre en el escenario de El Bierzo.

Un rango de valores considerado como normal, indistintamente del uso del suelo, oscila entre 1 y 4 (Jenkinson y Ladd 1981). En suelos de uso agrícola los valores habituales están comprendidos entre 2 y 4 (Anderson y Domsch 1989).

En Almadén destacan una serie de valores elevados, la mayoría de ellas en puntos de muestreo de parcelas de uso agrícola. Aunque uno de los puntos de muestreo que está teniendo un uso agrícola, AM(3b), presenta valores bajos, uno de ellos 1,16 en

primavera de 2007, es el menor de los obtenidos. Este punto de muestreo se ha considerado afectado por actividad metalúrgica debido a su contenido en metales pesados. En suelos forestales contaminados con metales se ha descrito una disminución en las tasas de descomposición de la hojarasca (Bååth 1989). De forma general se puede indicar una disminución en la tasa de mineralización de la materia orgánica de los suelos debida a la presencia de metales pesados (Giller *et al.* 1998), lo que conlleva una acumulación de la materia orgánica y por lo tanto un aumento del C_{org} . También se ha descrito una disminución de la masa microbiana en suelos contaminados con metales (Brookes y McGrath 1984) y, citando de forma directa el comportamiento de la relación C_{mic}/C_{org} hay trabajos que reportan valores bajos de esa relación en función de la contaminación del suelo por metales pesados (Barajas-Aceves *et al.* 1999; Barajas-Aceves 2005; Dhalin *et al.* 2010).

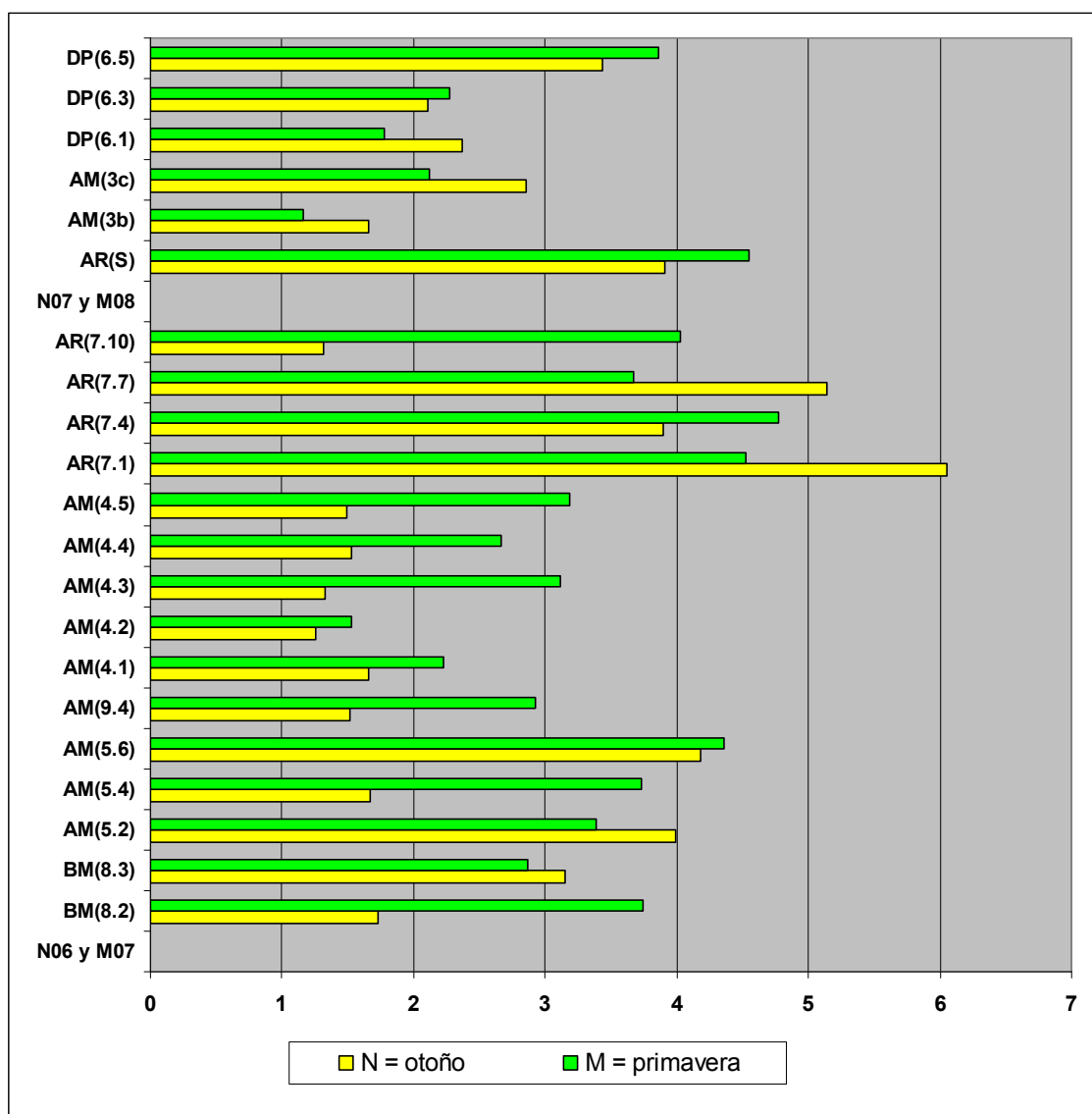


Figura 79.- Relación C_{mic}/CO_{FO} como porcentaje de C_{mic} en CO_{FO} .

Variabilidad de la relación C_{mic}/C_{org} según la época de muestreo.

Los valores de C_{mic}/C_{org} obtenidos en primavera, especialmente la mediana, son algo mayores en las muestras de primavera (Fig. 80), aunque las diferencias no son estadísticamente significativas.

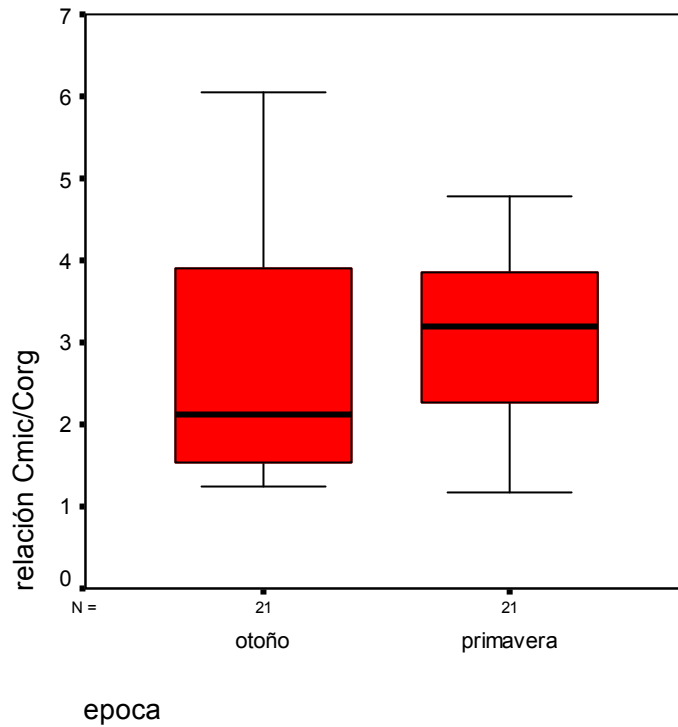


Figura 80.- Diagrama de caja, relación C_{mic}/C_{org} según la época de muestreo.

Variabilidad de la relación C_{mic}/C_{org} según el uso del suelo.

Los valores de esta relación en las parcelas que han tenido o tienen un uso agrícola (Fig. 81), con práctica de arado, son sensiblemente mayores que los obtenidos para otros usos, lo que concuerda con los efectos de la práctica del arado (Tebrügge y During 1999). Las diferencias para la relación C_{mic}/C_{org} entre el uso agrícola y la afectación metalúrgica y la dehesa de pasto son estadísticamente significativas (ANEXO I).

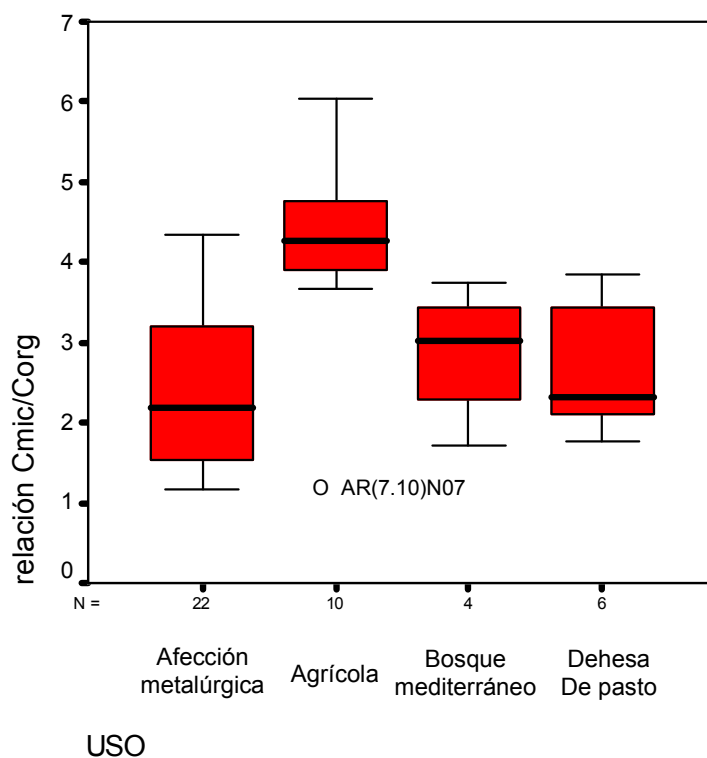
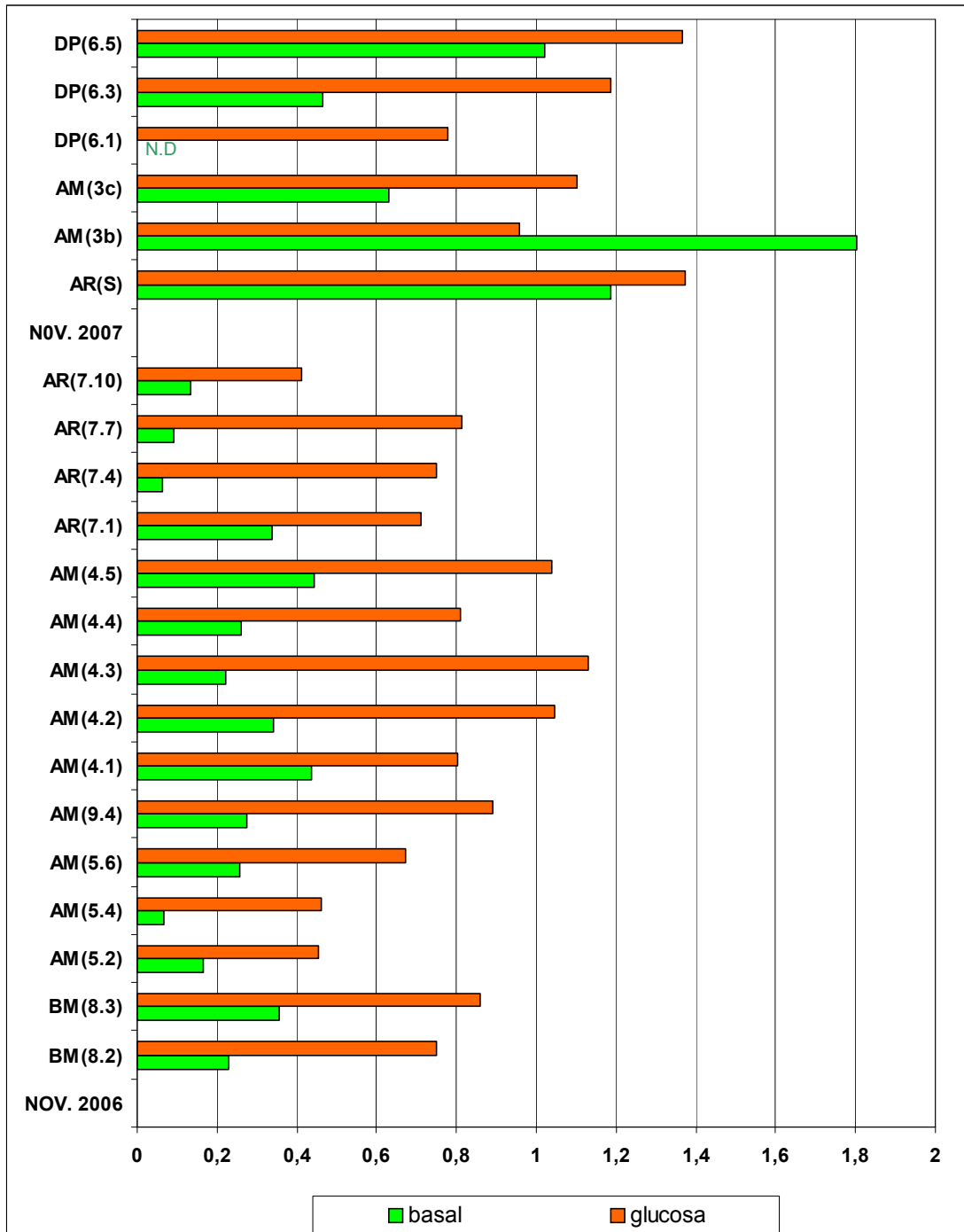


Figura 81.- Diagrama de caja, relación C_{mic}/C_{org} según el uso del suelo.

Cociente respiratorio.

El cociente respiratorio expresa la relación molar entre el oxígeno consumido y el dióxido de carbono producido durante la respiración. Los valores que ofrecemos como RQ basal se refieren al cociente respiratorio en las muestras y en los momentos en los que se midió la respirometría basal. Cuando se indica RQ glucosa se hace referencia a los valores del cociente respiratorio de las muestras del suelo a las que se ha añadido glucosa para obtener C_{mic} (SIR), en el preciso momento en que se obtiene el valor MIRR, (maximum initial respiratory response) (Anderson y Domsch 1978). El valor de RQ nos puede dar una idea del grado de oxidación de la materia orgánica consumida como fuente de carbono y energía y consecuentemente mineralizada, liberando en el proceso dióxido de carbono. Los resultados obtenidos se presentan en las figuras 82 y 83



*Figura 82.- Cociente respiratorio, campañas otoño de 2006 y otoño de 2007.
(N.D.=no determinado).*

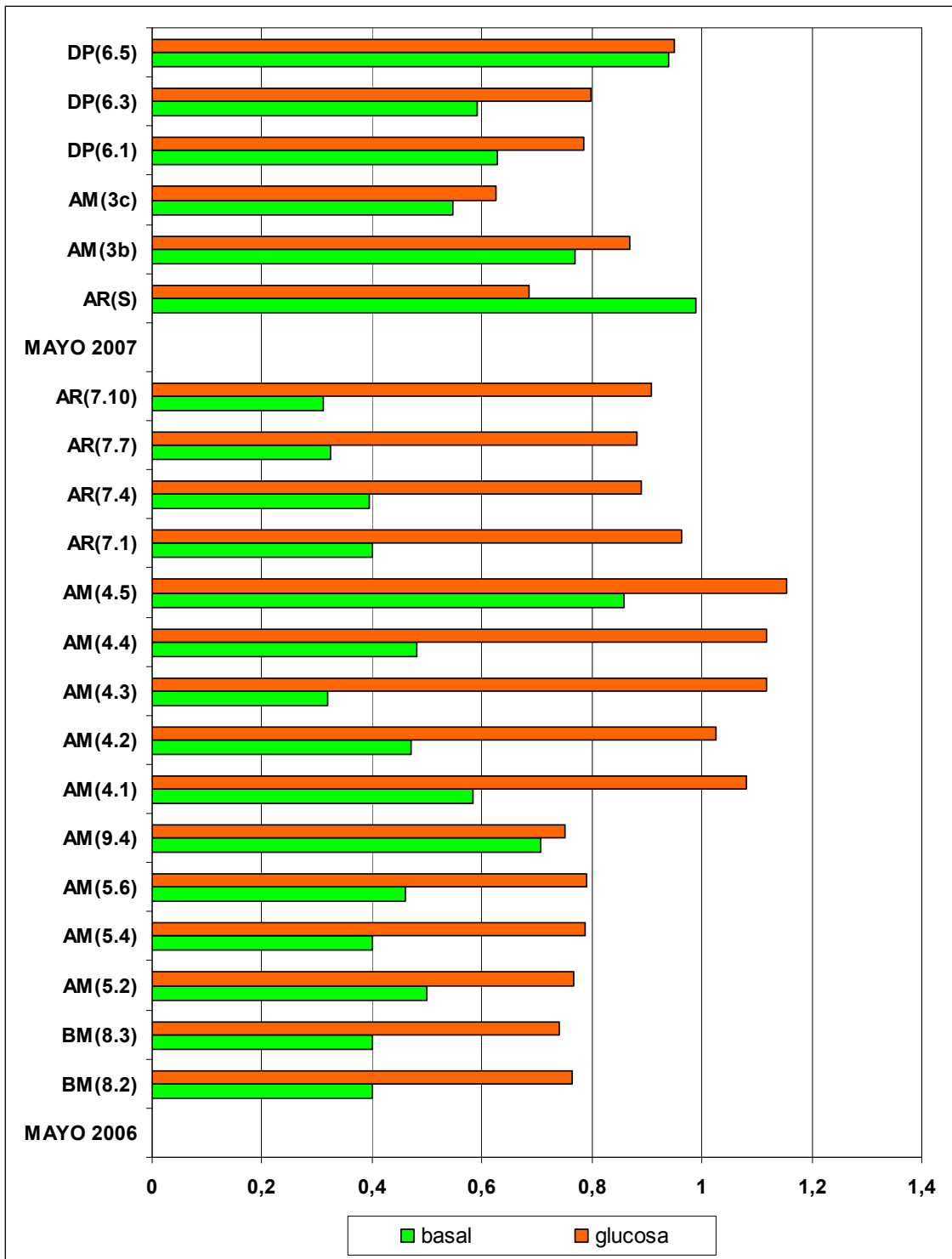


Figura 83.- Cociente respiratorio, campañas primavera de 2007 y primavera de 2008.

IV.4.- Análisis conjunto de las variables estudiadas

En este apartado se recogen los resultados del análisis multivariante de componentes principales para las variables más relevantes entre las estudiadas.

Análisis de componentes principales

La aplicación del método de componentes principales, cuyos resultados se recogen en la tabla 9, requiere partir de una matriz de datos regular. El desarrollo de la experimentación, en el caso de Almadén, ha permitido obtener datos de mercurio total en las muestras de otoño y datos de otros metales pesados en las muestras de primavera, se considera interesante incluir estos datos en el análisis multivariante por lo que se ha recurrido a duplicar los datos, considerando que en este tipo de variables la diferencia estacional debe ser despreciable. Adicionalmente se ha comprobado que el análisis realizado de esa manera no sólo no ofrece diferencias de interpretación, sino que aglutina los resultados que hubiéramos obtenido en tres análisis con matrices regulares, una con las variables de todos los muestreos, excluyendo metales y mercurio, otra con los datos correspondientes a las variables obtenidas en los muestreos de otoño, incluyendo mercurio, pero no metales y otra con las variables analizadas en las campañas de primavera, incluyendo metales y excluyendo mercurio.

Tabla 9.- Matriz de componentes rotados. Método de extracción por componentes principales. Rotación Varimax con normalización Kaiser.

Variable	Componente				
	1	2	3	4	5
Máxima cap. de agua (WHC)	0,881	-0,048	0,256	-0,15	-0,07
Humedad (en % WHC)	-0,335	-0,346	-0,624	0,359	-0,044
Densidad aparente	-0,594	-0,363	-0,095	0,245	0,161
Arena (porcentaje)	0,356	-0,337	0,418	-0,113	-0,371
pH H ₂ O	0,161	0,553	0,462	0,006	0,474
C _{mic} (SIR)	0,894	-0,150	0,096	0,297	-0,049
Respirometría basal	0,828	0,112	0,395	-0,082	-0,129
Tasa máxima de respiración	0,903	-0,089	0,271	0,177	-0,086
qCO ₂	-0,025	0,631	0,373	-0,445	-0,188
Relación C _{mic} C _{org}	-0,019	-0,259	0,052	-0,904	0,017
BRS	0,144	-0,040	0,803	0,186	-0,022
Heterótrofos totales	0,796	-0,014	0,160	0,256	0,188
Actinomicetos	0,715	0,080	0,003	0,289	0,222
C _{ORG FO}	0,963	-0,047	0,042	-0,117	-0,049
C _{TOTAL}	0,975	0,103	0,006	-0,112	-0,026
C _{INORG}	0,016	0,968	0,012	-0,044	0,111
C _{ORG TOTAL}	0,980	0,040	-0,007	-0,110	-0,033
N _{TOTAL}	0,967	-0,104	0,047	-0,109	0,037
Hg _{TOTAL}	-0,026	-0,051	-0,041	0,012	0,912
Carbonatos	0,035	0,968	0,054	-0,051	0,003
Ni	-0,162	0,658	-0,198	-0,401	0,056
Pb	-0,014	0,985	0,008	-0,040	-0,051
Zn	0,023	0,986	0,023	-0,101	-0,002
Varianza explicada (%)	37,670	23,675	8,488	7,729	6,079
Varianza acumulada	37,670	61,344	69,833	77,561	83,641

Celdas sombreadas en amarillo: correlaciones altas y positivas con el componente

Celdas sombreadas en teja: correlaciones altas y negativas con el componente

En la matriz de componentes rotados se obtienen 5 componentes que en conjunto explican un 83,64% de la varianza.

Tras la rotación, **el componente 1** es el que mayor porcentaje de la varianza viene a explicar, con un 37,66 %. Este componente presenta correlación muy elevada con la materia orgánica, lo que conlleva la relación con:

a).- las **propiedades físicas del suelo** como la densidad aparente, con la que presenta una correlación alta y negativa, a mayor contenido en materia orgánica en los suelos la densidad aparente tiende a disminuir, lo que facilita la circulación de gases y agua por la matriz del suelo. El componente uno también presenta un índice de correlación muy alto (0,881), con la capacidad de retención de agua.

b).- las **propiedades químicas del suelo**, como el CO_{FO} , COT, Ctotal, y N, en lo que pueden suponer la presencia de nutrientes para el crecimiento de los microorganismos. La correlación con el componente 1 de las formas mencionadas de carbono y del nitrógeno es muy alto y positivo, en todo caso $\geq 0,963$.

c).- **las características biológicas del suelo.**- Tanto en lo que se refiere a la actividad inducida en la tasa máxima de respiración (0,903), como en la actividad basal (0,828). Además presenta valores de correlación altos con la masa microbiana, $C_{mic}(SIR)$ (0,894), como con las bacterias heterótrofas totales y con los actinomicetos, en todo caso el valor de correlación $\geq 0,7$.

El **componente número 2** explica el 23,67% de la varianza. Presenta los valores más altos de correlación con Zn (0,986) y con Pb (0,985) y también una correlación elevada con Ni (0,658). Adicionalmente C_{INORG} y Carbonatos también correlacionan alto con ese componente (0,968), así como el qCO_2 , con correlación de 0,631. Todo lo anterior nos remite claramente al punto de muestreo AM(3b), la zona de vega próxima al Quinto del Hierro. Parte de las parcelas que tienen afectación metalúrgica presentan valores de pH más cerca de la neutralidad e incluso ligeramente alcalinos, este componente presenta el valor más alto de correlación con el pH en H_2O , con 0,553, aunque en los componentes 3 y 5 esta variable también tiene valores positivos y relativamente altos.

El **componente número 3** explica el 8,49% de la varianza. Presenta el valor más alto de correlación con las bacterias reductoras del sulfato, BRS (0,803). Esta variable presentaba su valor más elevado en la muestra de otoño de AM(5.2) aunque contrariamente a lo que sería esperable, la correlación de este componente con el contenido en humedad es negativo y elevado (-0,624). En las muestras de otoño de 2007 se evidenciaba un menor contenido en humedad que en el resto de campañas y en DP(6.5), en esa campaña, se describe también el segundo valor más alto de bacterias reductoras del sulfato. Por otro lado si pareciera tener algo más de sentido la relación de la humedad, con correlación negativa, con el contenido en arena. Esto nos indicaría un suelo más poroso, con más facilidad para que fluya el agua. Una de las muestras más secas tiene precisamente un contenido en arena especialmente alto, la correspondiente al punto de muestreo DP(6.5). En ese punto de muestreo de la dehesa de pasto, así como en la parcela AM(5) se analizan valores próximos a la neutralidad o ligeramente alcalinos, lo que explicaría el valor de saturación del pH (0,462), en este componente.

El **componente número 4** explica el 7,73% de la varianza y presenta una saturación muy alta con la relación C_{mic}/C_{org} , cuyos valores más altos se encontraban en las parcelas dedicadas a uso agrícola y presenta una correlación alta, pero con signo negativo, con el cociente metabólico, qCO_2 , cuyos valores más bajos los encontramos en los puntos de muestreo correspondientes al bosque mediterráneo.

El **componente número 5** explica el 6,08% de la varianza Es el componente donde el contenido en mercurio puntúa más, con 0,912 y está claramente asociado con la parcela AM(5) de los hornos de Almadenejos. También el pH es neutro o ligeramente alcalino. El pH tiene una correlación con este componente de 0,474.

Análisis discriminante.

En estadística, el objetivo último del análisis discriminante es encontrar la función o combinación lineal de las variables independientes, denominada función discriminante, que mejor permite diferenciar entre grupos.

En este trabajo, los puntos de muestreo se han incluido en parcelas de experimentación, a las que se les ha asignado un uso o tipología, tal como se explicaba en materiales y métodos. El criterio de clasificación para considerar una parcela como afectada por

metalurgia, código AM, ha sido su contenido en metales, Hg, Pb, Zn o Ni. Las parcelas cuyo contenido en metales era inferior a determinada concentración eran clasificadas según se apreciaba su uso o tipología en el campo:

Uso agrícola, con código AR en aquellas parcelas donde se apreciaban evidencias de haber sido aradas.

Dehesa de pasto, con código DP, a un majadal cuyo uso para albergar ovejas era claramente apreciable.

Bosque Mediterráneo, con código BM, a muestras tomadas en un encinar muy cerrado próximo a la parte más alta de la Sierra de Cordoneros.

Uno de los objetivos de aplicar el análisis discriminante en este trabajo es evaluar hasta que punto se ha seguido un criterio adecuado para asignar el uso o topología a una determinada parcela de trabajo.

La discriminación sobre asignación de puntos de muestreo a usos del suelo en cada parcela se realiza a través de las variables que se han estudiado. Uno de los objetivos de este trabajo era analizar la capacidad para discriminar que presentaban en particular dos variables, el cociente metabólico (qCO_2) y la relación C_{mic}/C_{org} . Además se han elegido aquellas variables que si han presentado una capacidad real de discriminación a largo de este trabajo, el resto de variables elegidas para el análisis discriminante son:

Arena

pH en H₂O

Masa microbiana ($C_{mic}(SIR)$)

CO_{FO}

El procedimiento que se ha utilizado es el de inclusión por pasos. Se utiliza por defecto la Lambda de Wilks. Cada variable independiente candidata a ser incluida en el modelo se evalúa mediante un estadístico F_{cambio} que mide el cambio que se produce en el valor de la lambda de Wilks al incorporar cada una de las variables al modelo. Obteniendo el valor del estadístico por cada variable, se incorpora al modelo la variable a la que le corresponde el mayor valor F_{cambio} (la que produce mayor cambio en la lambda de Wilks).

Tabla 10.- Estadísticos del análisis discriminante en los tres primeros pasos.

Paso	Variables	Tolerancia	F para eliminar	Lambda de Wilks
1	CO _{FO}	1,000	16,131	
2	CO _{FO}	0,975	15,389	0,593
	C _{mic} /C _{org}	0,975	8,232	0,440
3	CO _{FO}	0,962	14,882	0,437
	C _{mic} /C _{org}	0,943	8,539	0,334
	pH en H ₂ O	0,960	4,241	0,264

Tras los tres primeros pasos del análisis las tres variables más adecuadas para desarrollar la función discriminante son las indicadas en el paso 3 de la Tabla 12: CO_{FO}; C_{mic}/C_{org} y pH en H₂O.

Los coeficientes estandarizados (Tabla 11) permiten valorar la contribución neta de cada variable seleccionada a la función discriminante. En este análisis se puede apreciar que, en la función 1, a mayor valor CO_{FO} la puntuación será mayor, mientras que C_{mic}/C_{org} presenta un valor negativo en esa función, a mayor valor de esa relación menor puntuación en la función 1. En la función 2 la puntuación mayor y positiva corresponde a C_{mic}/C_{org}, mientras que el pH tiene un coeficiente negativo, por lo que valores altos de pH puntuarán negativo en esta función. En la función 3 es pH en H₂O la variable que obtiene mayor puntuación, C_{mic}/C_{org} presenta puntuación positiva pero media y prácticamente cero para carbono orgánico oxidable.

Tabla 11.- Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes canónicas.

Variable	Función		
	1	2	3
pH en H ₂ O	0,470	-0,423	0,801
C _{mic} /C _{org}	-0,664	0,624	0,480
CO _{FO}	0,825	0,598	-0,018

La relación entre las funciones y los grupos se presenta en la Tabla 12 con las Funciones en los centroides de los grupos.

Tabla 12.- Funciones en los centroides de los grupos.

Uso	Función		
	1	2	3
Afectación metalúrgica (AM)	0,391	-0,542	0,024
Agricultura (AR)	-2,086	0,434	0,248
Bosque mediterráneo (BM)	-0,729	0,420	-0,966
Dehesa de pasto (DP)	2,529	0,984	0,142

El uso afectación metalúrgica (AM) presenta puntuación negativa en la función 2 (tabla 12), esta función presenta valores de coeficientes estandarizados (tabla 11) medio-altos y muy similares en las variables C_{mic}/C_{org} (624) y CO_{FO} (598), la función 2 también presenta valor medio, pero negativo, en pH en H₂O (-0,423), pero esa función 2 en el centroide del grupo asociado al uso afectación metalúrgica también es negativo, por lo que valores medidos medio – altos de pH en H₂O facilitarían la inclusión del punto de muestreo dentro del uso afectación metalúrgica. La función 2 en el centroide del uso afectación metalúrgica presenta un valor medio pero es el más destacable de los valores de las funciones, además la función 2 nos remite a unos coeficientes estandarizados no especialmente significativos, lo que implica una cierta dificultad en la asignación correcta de puntos de muestreo a este uso.

El uso agricultura (AR) presenta valores negativos y elevados con la función 1 (-2,086), tabla 12. La función 1 presenta valores de coeficientes estandarizados (Tabla 11), altos

y positivos (0,825) con CO_{FO} , por lo que incluirá en el uso aquellos puntos de muestreo con menor contenido en CO_{FO} . La variable C_{mic}/C_{org} , presenta un coeficiente estandarizado negativo (-0,664), y el valor del centroide en esa función (tabla 12) es también negativo y muy alto por lo que puntos de muestreo con valores altos de la relación C_{mic}/C_{org} y bajo contenido en CO_{FO} se considerarían correctamente incluidos dentro del uso agricultura.

El uso bosque mediterráneo, en su centroide, ofrece puntuación negativa (-0,729) para la función 1, tabla 12. A su vez la función 1 presenta un coeficiente estandarizado alto y positivo (0,825) con el CO_{FO} , por lo que se esperaría que puntos de muestreo con valores relativamente bajos de CO_{FO} fueran incluidos en el uso bosque mediterráneo. El valor del coeficiente estandarizado en la función 1 para C_{mic}/C_{org} es de signo negativo y magnitud media (-0,664), por lo que valores medios o ligeramente altos de la relación C_{mic}/C_{org} facilitarían la inclusión del punto de muestreo en el uso bosque mediterráneo. Por otro lado, la función 3 en el centroide del grupo uso bosque mediterráneo es alto y negativo (-0,966), tabla 12. La función 3 presenta un coeficiente estandarizado muy alto y positivo con el pH en H_2O , lo que implica que verán favorecida su inclusión en este grupo aquellos puntos de muestreo en los que se hayan determinado valores bajos de pH.

El uso dehesa de pasto presenta el valor más alto y positivo de función en el centroide de su grupo, con la función 1 (2529), tabla 12, esta función presenta coeficientes estandarizados (tabla 11) altos y positivos con CO_{FO} (0,825) y altos y negativos con C_{mic}/C_{org} (-0,664), con respecto a esa función 1, para el uso dehesa de pasto se adaptarían valores muy altos de CO_{FO} y valores relativamente bajos de C_{mic}/C_{org} . El valor de la función 2 en el centroide del grupo uso dehesa de pasto es alto y positivo (0,984) precisamente el valor más alto de coeficiente estandarizado en la función 2 corresponde a la relación C_{mic}/C_{org} con un valor casi igual que el coeficiente estandarizado de la función 1, pero con signo contrario, en la función 2 es positivo. No obstante el valor tan alto del centroide del uso dehesa de pasto en la función 1 hace que en cierta forma favorezca más la inclusión de puntos de muestreo con valores relativamente bajos de C_{mic}/C_{org} en el uso dehesa de pasto.

Finalmente fueron clasificados correctamente el 71,4% de los casos agrupados originales. En la Tabla 13 se presentan los resultados de la clasificación.

Tabla 13.- Resultados de la clasificación.

USO	Grupo de pertenencia pronosticado				Total
	Afectación metalúrgica	Agricultura	Bosque Mediterráneo	Dehesa de pasto	
En número de casos					
Afectación metalúrgica	15	2	3	2	22
Agricultura	2	8	0	0	10
Bosque Mediterráneo	1	0	3	0	4
Dehesa de pasto	2	0	0	4	6
En porcentaje					
Afectación metalúrgica	68,2	9,1	13,6	9,1	100
Agricultura	20,0	80,0	0	0	100
Bosque Mediterráneo	25,0	0	75,0	0	100
Dehesa de pasto	33,3	0	0	66,7	100

En todos los casos de mala clasificación está implicado el uso afectación metalúrgica. Lo anterior se puede justificar por haber seguido como criterio para la inclusión de los puntos de muestreo en afectación metalúrgica tiene sentido, pero el contenido en metales de los suelos de Almadén raramente modifica de forma apreciable otras características del suelo.

Dentro de los puntos de muestreo mal clasificados como afectación metalúrgica, encontramos aquellos puntos de muestreo que mejores condiciones para la actividad microbiológica presentan, como las dos muestras de la instalación minero-metalúrgica

de la Quinta del Hierro AM(3c), que se asignan al uso dehesa de pasto, explicable por sus altos valores de CO_{FO} .

También inicialmente asignadas a afectadas por metalurgia pasan a bosque mediterráneo tanto las dos muestras de AM(4.1) y la de primavera de AM(4.2), seguramente debido a su bajo valor de pH, más cercano al criterio que prima para su aceptación en el uso bosque mediterráneo según el análisis discriminante. También el análisis discriminante clasifica como puntos de uso agrícola a las dos muestras de AM (5.6). con relación C_{mic}/C_{org} muy alta dentro de la tipología afectado por metalurgia pero en un rango adecuado para su inclusión como uso agrícola.

En la tipología bosque mediterráneo hay una muestra clasificada como afectación metalúrgica, concretamente BM(8.2), de noviembre de 2006, con un pH algo más elevado que en las otras de bosque mediterráneo.

Dentro del uso dehesa de pasto hay dos muestras que incluye como afectación metalúrgica, las dos correspondientes a DP(6.3) que son las que menor contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable presentan dentro de las muestras tomadas en DP.

En uso agrícola hay dos muestras que clasifica como afectadas por metalurgia, ambas correspondientes a AR(7.10). Una de las muestras tiene un valor de C_{mic}/C_{org} que parece elevado para el uso agrícola y entre las de uso agrícola son las que tienen un valor de pH más adecuado al uso afectación metalúrgica.

Análisis clúster.

El análisis clúster, o de conglomerados, se ha realizado con todas las variables comunes y presenta dos conglomerados principales (Fig. 84) en uno de ellos sólo están las muestras correspondientes a DP(6.5). Las tomas de muestras restantes, cuarenta, están divididas en tres grandes subgrupos, en el más próximo al de DP(6.5) tenemos otros, en total con 8 unidades, 3 correspondientes a la parcela AM(5), otras dos correspondientes a las dos tomas de muestra en DP(6.1), así como las correspondientes a AM(3c) y una de BM(8.2).

El segundo gran grupo, el de la parte baja, se subdivide en otros grupos, precisamente el que ocupa la parte más baja del gráfico incluye el otro valor de BM(8.2) y todos los correspondientes al muestreo de otoño en AM(4) y los dos de la parte alta de esa parcela en el muestreo de primavera AM(4.1) y AM(4.2), de AR(7) los dos del punto de muestreo 10 –AR(7.10)- y el punto 4 en el muestreo de otoño, también dos correspondientes a AM(3b), uno de los correspondientes a AR(S) y otro de AM(9.4), ambos en el muestreo de otoño. Mientras que el grupo sobre el que se discute en el párrafo anterior incluye aquellas muestras que presentan unas características más favorables para la actividad microbiológica los de este segundo gran grupo parecen relacionarse con los puntos de muestreo donde se encuentran las condiciones más desfavorables para la actividad microbiológica.

En los dos subgrupos intermedios, el de más abajo, más próximo al comentado en el párrafo anterior se encuentran dos muestras correspondientes a AM(4), los puntos de muestreo AM(4.4) y AM(4.3) en los muestreos de primavera, también los dos de AR(7.1), el punto de muestreo en otoño de DP(6.3), también en otoño el punto de muestreo BM(8.3) y AM(5.4), además de los puntos de muestreo en primavera AR(S) y AM(9.4).

El otro grupo incluye las dos muestras correspondientes a AR(7.7), también AR(7.4) de noviembre de 2006 y de esa misma campaña la muestra AM(5.6), el resto de muestras incluidas en este grupo son: BM(8.3) y AM(5.2) de la primavera de 2007 y DP(6.3) de la primavera de 2008.

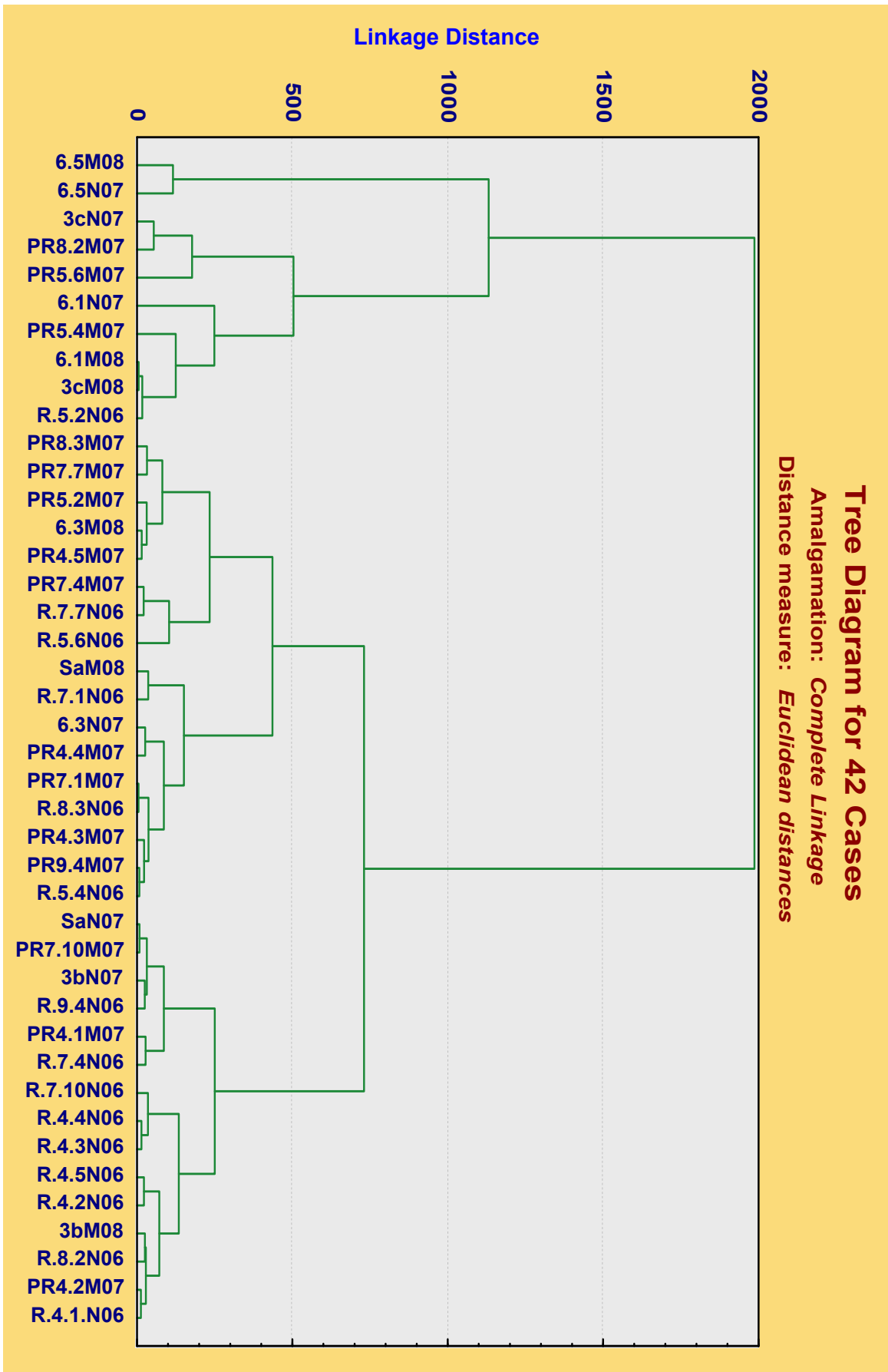


Figura 84.- Dendrograma clasificatorio análisis clúster.

IV.5.- Discusión general. Almadén.

El Primer objetivo del trabajo consiste en identificar las posibles causas de perturbación del sistema edáfico producidas por las actividades mineras y metalúrgicas.

Excepto el contenido en mercurio y otros metales todos las variables analizadas, físicas, físico-químicas o químicas indican que los suelos estudiados no presentan limitaciones severas para el desarrollo de la actividad microbiana.

En cuanto al contenido en mercurio en los suelos de Almadén se ha visto que su concentración en los suelos es muy elevada, pero que el mercurio está en formas poco disponibles (mayormente en forma de sulfuros). La actividad metalúrgica conlleva un aumento de la, ya de por sí, elevada concentración de mercurio en los suelos, tal como indican los resultados sobre concentración de mercurio obtenidos en el propio emplazamiento metalúrgico de Almadenejos y en la posible influencia de la actividad allí desarrollada sobre la concentración de mercurio en la parcela AM(4). Por otro lado la actividad minera, con la generación de las escombreras de El Entredicho, también implica un aumento considerable en la concentración de mercurio en los suelos al pie de la escombrera AM(9).

El contenido en metales pesados está por encima de los límites del RD. en varios de los puntos de muestreo, dentro de la parcela de los hornos de Almadenejos en el punto AM(5.4), con Pb y en todos los puntos de la parcela AM(4) para Ni y en AM(4.1) también para Pb. También con valores que superan el límite de plomo en AM(3c), pero en AM(3b) la concentración de Ni o Zn está por encima del límite y la de Pb escandalosamente por encima del límite, lo que es especialmente grave si consideramos el uso agrícola de esa parcela.

El segundo objetivo es determinar si la afectación de un terreno por prácticas mineras o metalúrgicas tiene efecto sobre la actividad microbiana.

El criterio seguido a la hora de asignar a un punto de muestreo la tipología “afectado por metalurgia o minería” es la concentración de mercurio o de otros metales pesados, por lo que puede tener sentido plantear la discusión en dos secciones:

Mercurio y variables de actividad microbiológica

Otros metales y variables de actividad microbiológica

Como no son los únicos usos que se han tipificado se podría completar con otro apartado, que correspondería con el tercer objetivo de este trabajo:

Otros usos y actividad microbiológica.

El mercurio en Almadén y la actividad microbiana.

En el único estudio sobre actividad microbiológica relacionada con el mercurio en la comarca minera de Almadén (Gray *et al.* 2004) hicieron una valoración del potencial de transformación, metilación y demetilación de mercurio en muestras obtenidas en Almadén, entre ellas sólo una es de suelo y procedía de la zona más próxima a los depósitos de calcinados dentro del recinto de los antiguos Hornos de Almadenejos AM(5). El resto de las muestras analizadas son de agua y sedimentos del río Valdeazogues. El método experimental que aplican incluye la adición a la muestra de formas solubles de mercurio, indicando que las tasas de transformación que obtuvieron son más altas que las que se dan “in situ” en los suelos de Almadén, ya que el mercurio en los suelos va a estar mucho menos disponible que en la solución experimental que utilizaron. No obstante, describieron un potencial de transformación de mercurio elevado en la muestra de calcinados.

Los valores de masa microbiana, en la parcela de los Hornos de Almadenejos AM(5), obtenidos mediante respirometría inducida por substrato (SIR) oscilan entre 483,9 y 1352,2 mg C_{mic} Kg suelo⁻¹. La mediana de los valores de masa microbiana obtenidos por SIR en esas campañas fue de 490 mg C_{mic} Kg suelo⁻¹, n = 30. De los seis valores obtenidos en la parcela sólo uno se encuentra por debajo, pero muy cerca, del percentil 50.

Por otro lado, sobre las muestras recogidas en la primera campaña en Almadén se realizó también la estimación de masa microbiana por el método de fumigación-extracción. Esto nos permitió comparar el mismo parámetro por dos métodos distintos, superando así los problemas de baja correlación entre métodos diferentes (Wardle y Parkinson 1990), y recogiendo la sugerencia de usar más de un método para la

determinación de esta variable realizada por otros autores (West *et al.* 1986). Además, algunos autores (Martens, 1987; Theenhaus *et al.* 1997) encuentran que el método SIR puede sobrevalorar el valor de masa microbiana en suelos con elevado pH debido a la solubilización de carbonatos, al producir dióxido de carbono abióticamente. El carbono inorgánico en la parcela AM(5) (Fig. 52) es relativamente elevado, así como los carbonatos (Fig. 53) en el punto AM(5.2), también el valor de pH en la parcela AM(5) es muy cercano a la neutralidad, entre 7,0 y 7,17 en otoño de 2006 y 5,82 y 7,09 en la primavera de 2007, lo que podría hacer sospechar la producción abiótica de CO₂ con la consiguiente sobrevaloración de la estimación de C_{mic}(SIR). Esta situación se reflejaría en valores de cociente respiratorio por encima de la unidad (Theenhaus *et al.* 1997). El valor de uno en el cociente respiratorio es el valor teórico para la glucosa y, en muestras de suelo enmendadas con glucosa y en tiempos de ensayo cortos, como el usado en la estimación de C_{mic}(SIR), ese valor se podría alcanzar (Dilly 2001). Sin embargo, el valor en todo momento está por debajo de uno (Figs. 82 y 83), por lo que la aportación de carbonatos puede ser descartada. No obstante, la realización de un segundo ensayo de masa microbiana, en este caso por fumigación-extracción, soluciona dudas sobre los valores de masa microbiana en esa parcela. Los datos obtenidos por FE fueron entre 730,44 y 1.283,24 mg C_{mic} kg⁻¹, exactamente los valores más altos de masa microbiana obtenidos con ese método.

El cociente metabólico o $q\text{CO}_2$ debería mostrar valores altos como respuesta a la presencia de metales pesados en suelos (Brookes 1995). No obstante las muestras de AM(5) presentan unos valores de cociente metabólico por debajo de la mediana de los valores analizados considerando todas las muestras de Almadén. Tampoco otras parcelas, que presentan altos contenidos en mercurio total, como el pie de la Escombrera de El Entredicho AM(9.4) o la parcela cercana a Almadenejos AM(4), muestran valores especialmente elevados. Se han descrito resultados contradictorios sobre la respuesta del cociente metabólico a la presencia de metales pesados, en alguna medida debido a que la variación en el cociente metabólico puede ser debido a causas ambientales distintas a la presencia de metales (Insam *et al.* 1996). Otras críticas al uso del cociente metabólico en general (Wardle y Ghani 1995) por su falta de resolución, han sido contestadas con la necesidad de realizar el ensayo respetando la medida de las tasas horarias de producción de dióxido de carbono (Anderson 2003). Este aspecto ha sido respetado en este trabajo. En otras ocasiones la baja disponibilidad de los metales

pesados en el suelo evita un aumento de la actividad respiratoria, ya que no es necesario emplear energía en los mecanismos de resistencia (Dhalin *et al.* 2010). También otras respuestas de la microflora edáfica, p.ej. la aparición de cepas tolerantes, acaban implicando tasas de respiración relativamente bajas (Giller *et al.* 1998). Los resultados obtenidos en cuanto a la relación del cociente metabólico con el mercurio total reflejan que el mercurio no está generando un gasto adicional de energía y que los valores de cociente metabólico no aumentan con el contenido en mercurio.

Los valores de cociente metabólico se deben analizar considerando también el valor relativo de masa microbiana, para evitar que valores bajos de cociente con valores bajos de respiración basal y masa microbiana sean considerados como valores que no reflejan una situación de perturbación del sistema edáfico. En los puntos de muestreo donde hay más mercurio el contenido de masa microbiana no parece reflejar ningún tipo de perturbación. En puridad el contraste de los valores de cociente metabólico debería hacerse con el de la ratio C_{mic}/C_{org} (Anderson 2003). En las muestras de la parcela AM(5) el rango de valores de la ratio C_{mic}/C_{org} oscila entre 1,39 y 4.14 % , el valor más bajo de ese rango es el único que está por debajo de la mediana de los valores encontrados en Almadén. Esto viene a confirmar la ausencia de respuesta ante la potencial perturbación producida por concentraciones tan elevadas de mercurio.

El valor de referencia de la tasa máxima de respiración se supera ampliamente en todas las muestras de Almadén, pero los valores obtenidos en la parcela AM5 están por encima de la mediana de la distribución de los valores de tasa máxima.

En algunos estudios (Müller *et al.* 2001) encontraron, en suelos con gradiente de contaminación por mercurio metálico, un tamaño relativamente bajo de la población bacteriana en los puntos más contaminados y un cambio en la estructura de la comunidad microbiana, pero no en su funcionalidad para el uso de fuentes de carbono. En otros suelos contaminados por mercurio procedente de plantas de cloro-álcali tampoco se ha observado impacto ni en la biomasa microbiana ni en otros indicadores bioquímicos o relacionados con la diversidad funcional de la comunidad microbiana, como era esperable ya que también determinaron que las formas de mercurio en esos suelos eran muy poco disponibles (Ruggiero *et al.* 2011). Comparando la movilidad del mercurio en suelos de zonas afectadas por industrias de cloro-álcali y zonas afectadas

por minería han observado que la movilidad es siempre baja, pero un poco mayor en aquellas zonas donde la contaminación proviene de las plantas de cloro-álcali (Reis *et al.* 2010).

En Almadén el mercurio está mayoritariamente en forma de cinabrio, muy poco soluble y además las muestras son superficiales, lo que facilitaría las formas oxidadas, que son las menos solubles. En Almadén podríamos encontrar una respuesta de la microflora edáfica expresando resistencia al mercurio. Si esta respuesta se da, tal como se ha descrito (Gray *et al.* 2004), no parece influir mucho en el gasto de energía por la masa microbiana dado los valores de cociente metabólico mencionados. Podría darse una situación en que el mercurio fuera adoptando formas más solubles en superficie, lógicamente a velocidades muy bajas y que estas formas bien fueran transformadas en formas volátiles como metilmercurio o bien en formas solubles de mercurio que percolarán a capas más profundas del suelo.

Las actividades metilante y desmetilante del mercurio se han descrito con cierta profusión en bacterias sulforeductoras (Barkay *et al.* 2003), lógicamente asociada también a ambientes anaerobios y en presencia de materia orgánica. La condición anaerobia o microaerófila va a darse con mayor dificultad en muestras de suelo superficiales que en profundidad. En las muestras de Almadén, sólo seis valores de BRS (Fig. 65) se encuentran por encima del valor de referencia indicado (Alexander 1980). En la parcela AM(5), los hornos de Almadenejos, donde se determinan valores muy altos de mercurio, los resultados de BRS son muy bajos, excepto un valor, precisamente el más alto, que se obtuvo en el punto AM(5.2) en la muestra de otoño de 2006. Los valores de correlación entre BRS y contenido en mercurio son bajos y poco significativos. A pesar de que en esa parcela se ha descrito un cierto potencial de transformación microbiana de mercurio (Gray *et al.* 2004) nuestros resultados no permiten establecer una relación clara entre ambas variables.

La descripción de plantas acumuladoras de mercurio en esta parcela (Molina *et al.* 2006; Millán *et al.* 2006) apunta a la presencia de formas disponibles de mercurio para la planta en la zona radicular. En los datos sobre mercurio soluble, obtenido en muestras superficiales, el valor es relativamente bajo, expresado como porcentaje del mercurio total, lo que habría que matizar con valores absolutos de mercurio soluble en estas

muestras. Pero en todo caso, los resultados obtenidos indican ausencia de efecto en la actividad microbiológica en muestras superficiales.

Otros metales en Almadén y la actividad microbiana.

Sobre cómo se encuentra la microflora edáfica en la parcela correspondiente al punto AM(3b), podemos decir que la masa microbiana (C_{mic} SIR) presenta los valores más bajos entre las parcelas muestreadas en las dos últimas campañas, esto es otoño de 2007 y primavera de 2008, con valores de 290,87 y 240,61 $2 \text{ mg } C_{mic} \text{ kg suelo}^{-1}$. Incluso son valores más bajos que los de la parcela dedicada a agricultura intensiva AR(S), que se muestreó en las mismas campañas que AM(3b).

Resultados relativamente bajos de masa microbiana, aún con valores no especialmente altos de respirometría basal, conducen a que el cociente metabólico en AM(3b) sea el más elevado (Fig. 73) en el escenario de Almadén, 7,34 y 8,11 $\text{mg C-CO}_2 \text{ g}^{-1} C_{mic} \text{ h}^{-1}$.

La relación C_{mic}/C_{org} ofrece valores de 0,67 el más bajo y 0,94, el tercero más bajo de Almadén. Otros autores han descrito valores bajos para esta relación en suelos contaminados por metales pesados (Barajas-Aceves *et al.* 1999; Barajas-Aceves 2005; Dhalin *et al.* 2010). En suelos contaminados con metales, se ha descrito tanto la disminución de la masa microbiana (Brookes y MacGrath 1984) como un acúmulo de materia orgánica (Giller *et al.* 1998), seguramente debido a la ralentización de los procesos de descomposición de la hojarasca, tal como se ha descrito en suelos forestales contaminados con metales (Bååth 1989).

El punto de muestreo AM(3b) ha sido tipificado, para este trabajo, como afectado por metalurgia debido a su contaminación por metales, aunque su uso real es agrícola, lo que implicaría unos valores relativamente bajos de CO_{FO} , pero casi duplica los valores de CO_{FO} en AR(S) (Fig. 45) muestreados en las mismas campañas y presenta un valor más elevado que las parcelas AR(7) y AR(4) de las campañas de otoño de 2006 y primavera de 2006.

Los resultados obtenidos en el análisis factorial de componentes principales muestran al componente número dos con saturaciones positivas y muy altas de Pb, Zn, Ni y cociente

metabólico, con la relación C_{mic}/C_{org} , presenta un valor medio aunque es el más alto con signo negativo para esa relación en todos los componentes (-0,275).

En el cerco de Almadenejos, concretamente en el punto AM(5.4), además de las elevadas concentraciones de mercurio propias de la parcela, también hay concentraciones muy elevadas de Pb, Zn y Ni. No obstante, no se aprecia que pueda afectar a la actividad microbiológica en las muestras de suelo.

La parcela AM(4) tiene unas características un tanto peculiares. Por un lado, es la tercera en concentración de mercurio total, con concentraciones muy homogéneas, independientemente del punto de muestreo, y con desviaciones estándar relativamente bajas. Ello nos sugiere una aportación antrópica por depósito atmosférico de las instalaciones de Almadenejos, tal como indicaron previamente (Sánchez *et al.* 2005). Por otro lado el contenido en Ni es 1,5 veces mayor que el valor establecido como límite. Lo anterior nos lleva a tener que considerar que esa parcela está contaminada con mercurio y con níquel. Por otro lado, es una parcela con bajo contenido en CO_{FO} , sólo tienen menos CO_{FO} , las parcelas que presentan signos de haber sido aradas AR(7) y AR(S). Los valores en AM(4) de $C_{mic}(SIR)$ son de los más bajos que se encuentran en Almadén, aunque sus valores de respirometría basal también son bajos. A pesar de ello el cociente metabólico es mayor que el de las parcelas más afectadas por presencia de mercurio total AM(5) y AM(9.4). Finalmente los valores de la relación C_{mic}/C_{org} son también relativamente bajos comparados con los de las otras muestras tomadas en las dos primeras campañas, pero no parece que se pueda concluir inequívocamente un efecto sobre las variables de actividad microbiológica de la presencia de níquel o mercurio.

El tercer objetivo consiste en establecer el grado de afectación de la actividad microbiana por otros usos del suelo.

Las parcelas tipificadas como uso agrícola lo han sido por el hecho de que habían sido aradas o estaban cultivadas. Son dos parcelas, la AR(7) y la AR(S), aunque también está cultivada AM(3b), cuyo contenido en metales nos llevó a su tipificación como afectada por metalurgia. En cuanto al uso agrícola tiene como efecto que los valores asociados a las variables relacionadas con la materia orgánica de los suelos, tales como carbono orgánico fácilmente oxidable y carbono orgánico total sean más bajos para ese

uso que para cualquier otro, lo mismo ocurre con el nitrógeno total, lo que conduce adicionalmente a que los valores de la relación C/N sean relativamente altos. En principio, esta menor concentración de nutrientes se puede deber a que al retirar la cosecha se evita que esa biomasa se incorpore al suelo como necromasa con lo que el sistema sufre una pérdida progresiva de nutrientes. Por otro lado, tal como se comentó cuando se discutía específicamente del CO_{FO} , el arado produce un efecto de dilución de la materia orgánica, en la capa más superficial del suelo- y un efecto de cizalla sobre la materia vegetal que aumenta la disponibilidad de los nutrientes. Lo explicado anteriormente puede conducir a que nos encontremos (Fig. 55), con que la parcela AR(7) es la que dispone de menor concentración de carbono soluble, pero (Fig. 56) buena parte de su carbono orgánico total se encuentra en esa forma de carbono soluble. Adicionalmente la relación C_{mic}/C_{org} , (Fig. 81), muestra valores más altos que para uso agrícola que para otros usos. La discusión correspondiente al uso agrícola que se desprende del análisis discriminante resume las características asociadas a este uso y ya comentadas anteriormente

En cuanto a la parcela tipificada como “bosque mediterráneo”, BM(8), presenta el valor de pH más bajo entre los diferentes usos (Fig. 43). Sus valores de CO_{FO} son más altos que los de las parcelas tipificadas como de uso agrícola y esta afirmación es extensible al resto de variables asociadas con la materia orgánica de los suelos. El carbono total soluble en agua en esas parcelas es el más alto tras los valores de la parcela AM(5), (Fig. 55). Sin embargo la relación de carbono soluble como porcentaje del carbono orgánico total es bastante bajo (Fig. 56), lo que nos indica que la fuente de carbono es más recalcitrante a la degradación que la presente en otras parcelas. Tanto masa microbiana (C_{mic} SIR) (Fig. 67), como respirometría basal (Fig. 70) presentan en esta parcela valores similares a los encontrados para otros usos, excluido el de dehesa de pasto (Fig. 69), mientras que el uso bosque mediterráneo presenta los valores más bajos en cociente metabólico (Fig. 75).

El uso o tipología “dehesa de pasto” nos remite al majadal que aparece en la parcela DP(6), con valores de todas las variables asociadas con la materia orgánica muy altos con respecto a las otras topologías, como carbono orgánico oxidable (Fig. 47), y nitrógeno total (Fig. 56), lo que implica una relación C/N baja. Son condiciones que facilitan que tanto los recuentos de heterótrofos y actinomicetos sean elevados, así como

la masa microbiana por respirometría. También las condiciones para la actividad van a favorecer la respirometría basal (Fig. 72), pero sin conducir a un valor de cociente metabólico (Fig. 73) que indique posible perturbación. De hecho, los valores de tasa máxima de respiración son también los más elevados de entre los diferentes usos (Fig. 78) y los valores de la relación C_{mic}/C_{org} son relativamente bajos (Fig. 81). Las funciones del análisis discriminante reflejan la asociación de este uso con los valores elevados de carbono orgánico oxidable.

El cuarto objetivo consiste en discriminar hasta qué punto estas variables son de aplicación en nuestro estudio para establecer si hay o no y en que grado, una alteración de la actividad microbiana en los suelos.

La variable más controvertida, en cuanto a su potencial para discriminar entre una situación de perturbación, es el cociente metabólico. En este estudio no se ha mostrado valor indicador de las concentraciones elevadas de mercurio, pero el resultado del análisis factorial sí que muestra una relación evidente con el contenido en metales pesados, especialmente en el caso de AM(3b). Fue precisamente encontrar ese valor el que hizo que surgieran dudas sobre las causas a las que podría deberse y, a partir de allí, profundizar en los análisis de metales pesados.

Otra variable, menos controvertida pero cuya capacidad de discriminación sí se puede evaluar, es la relación C_{mic}/C_{org} . La diferencia de valores de C_{mic}/C_{org} con respecto al uso, en el sentido de esperar valores más altos en el uso agrícola es significativa, tanto en el análisis particular de la variable, como por su empleo en el análisis discriminante. Quizá, para esta relación, el hecho de que una parcela de uso agrícola, como la AM(3b) haya sido tipificada como afectada por metalurgia, habida cuenta de su contenido en metales pesados, se ha visto resaltada a la hora de discriminar. En este punto se dan unos valores especialmente bajos de la relación, como era esperable por el elevado contenido en metales.

A lo largo de esta parte del trabajo hemos visto que el nivel de referencia de tasa máxima, propuesto en el test de inhibición de la respirometría microbiana, no es de aplicación en estos suelos; no obstante la variable, aunque no sea habitual fuera del ámbito de suelos contaminados en áreas urbanas o zonas industriales, sí tiene una cierta

capacidad para discriminar entre parcelas con poblaciones microbianas sometidas a distintos grados de perturbación.

El quinto objetivo es explicar cuáles son los factores subyacentes que condicionan los valores de las variables estudiadas.

A pesar de las concentraciones elevadas de mercurio y de los otros metales, muy pocas parcelas reflejan, en su actividad microbiológica, variaciones que sean explicadas por la presencia de estos elementos. De hecho, se podría considerar el resultado del análisis factorial con un componente 2 que presenta un valor de varianza explicada algo menor del 20% como el efecto de metales en las características generales del suelo, especialmente con la incidencia en la obtención de valores altos de cociente metabólico.

Si volvemos al resultado del análisis factorial encontramos un componente 1 con un valor de explicación de varianza próximo al 40% que muestra que las variables que en mayor medida explican la actividad microbiológica en estos suelos son las relacionadas con el contenido en materia orgánica. Es un resultado esperable, pero importante ya que acota el efecto esperable de las altas concentraciones de metales y en especial de mercurio.

IV.6.- Características físicas y físico-químicas de los suelos de El Bierzo.

En este apartado se presentan los resultados correspondientes a las siguientes variables:

- Densidad Aparente.
- Análisis granulométrico.
- Capacidad máxima de agua (WHC).
- Humedad “in situ”.
- pH.
- Conductividad.

Densidad aparente.

Los valores de densidad aparente (Fig. 85) oscilan entre 0,55 y 1,7 g cm⁻³. Los valores más bajos se han obtenido en el robledal NA(B2), en el cual hay un mayor desarrollo radicular y contenido en materia orgánica. Los puntos que presentan valores más altos corresponden a las escombreras. Dentro de éstas, las que han recuperado una mayor cubierta vegetal presentan valores más bajos de densidad aparente (Mejuto *et al.* 2008) y, al contrario, valores más altos, en aquellas escombreras menos recuperadas. Esta relación, así como la correlación entre densidad aparente y carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}) ($r = -0,71$), tiene dos consideraciones: por un lado la aportación al suelo de necromasa y por otro, el desarrollo radicular de la vegetación, que favorecen la disminución de la densidad aparente. En cierta forma, se puede hablar de una retroalimentación, donde la compactación en los tecnosoles favorece valores altos de DA (Arranz González 2004), dificultando el desarrollo radicular que provocaría la disminución de la densidad aparente. Además de las escombreras, el valor de densidad aparente en PAR(B5) es también elevado. Este punto de muestreo, aunque está en la ribera del Rodrigatos, está situado a los pies de una escombrera, además de que la otra orilla también está ocupada por otra escombrera. Otro punto con valor relativamente elevado es PAR(B7). Además de estar en la ribera, con la consiguiente acumulación de materiales finos, es posible que se aprecie un efecto de compactación debido al uso ganadero de ese pastizal (Mejuto Mendieta 2011).

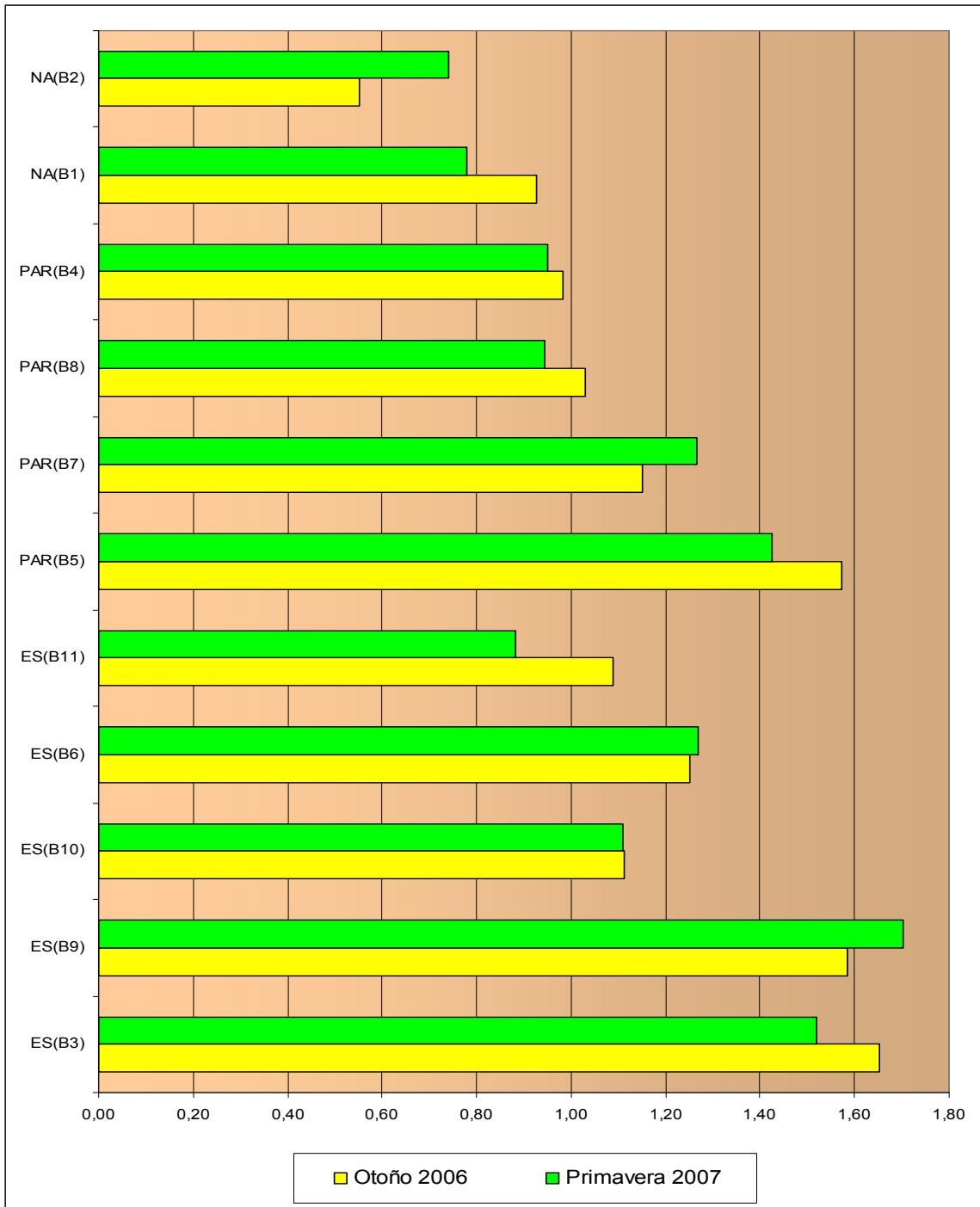


Figura 85.- Densidad aparente (g cm⁻³).

Análisis granulométrico

Los valores más altos de la fracción de arena (Fig. 86) corresponden a las escombreras, con porcentajes entre el 68,96% y el 83,04%. Estos altos valores de arena pueden explicarse por la litología de los residuos y el escaso desarrollo edáfico. El brezal NA(B1), también presenta un valor elevado de arena, quizá debido a la pérdida de

materiales más finos tras el incendio que sufrió. Destaca el porcentaje de limo en las praderas de la zona baja de muestreo, PAR(B7) y PAR(B8), con 41% y 47,56 %. Además, en PAR(B7), su posición topográfica puede contribuir al depósito de materiales finos, al igual que en las otras muestras de ribera, y en las praderas, en general. El contenido elevado en arcillas y limos en el robleal, NA(B2), es debido a la presencia de un horizonte A bien desarrollado.

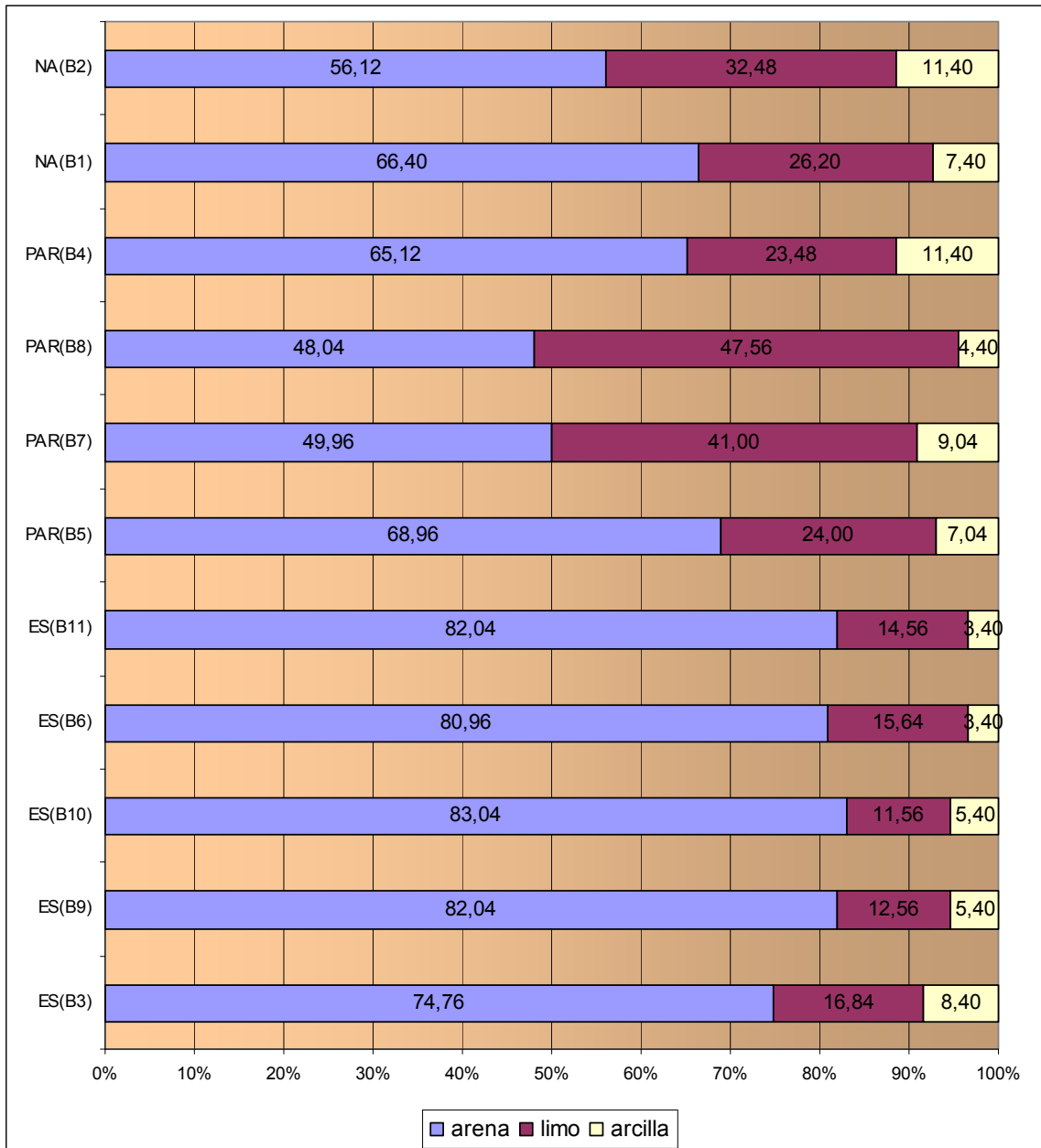


Figura 86.- Análisis granulométrico.

En la figura 87 se representan la clases texturales en las que se incluyen las muestras según su composición granulométrica, utilizando el triángulo de texturas de la USDA (USDA 2011b). Los puntos de muestreo corresponden a la denominación que hemos establecido para los sitios de estudio de El Bierzo (tabla 14).

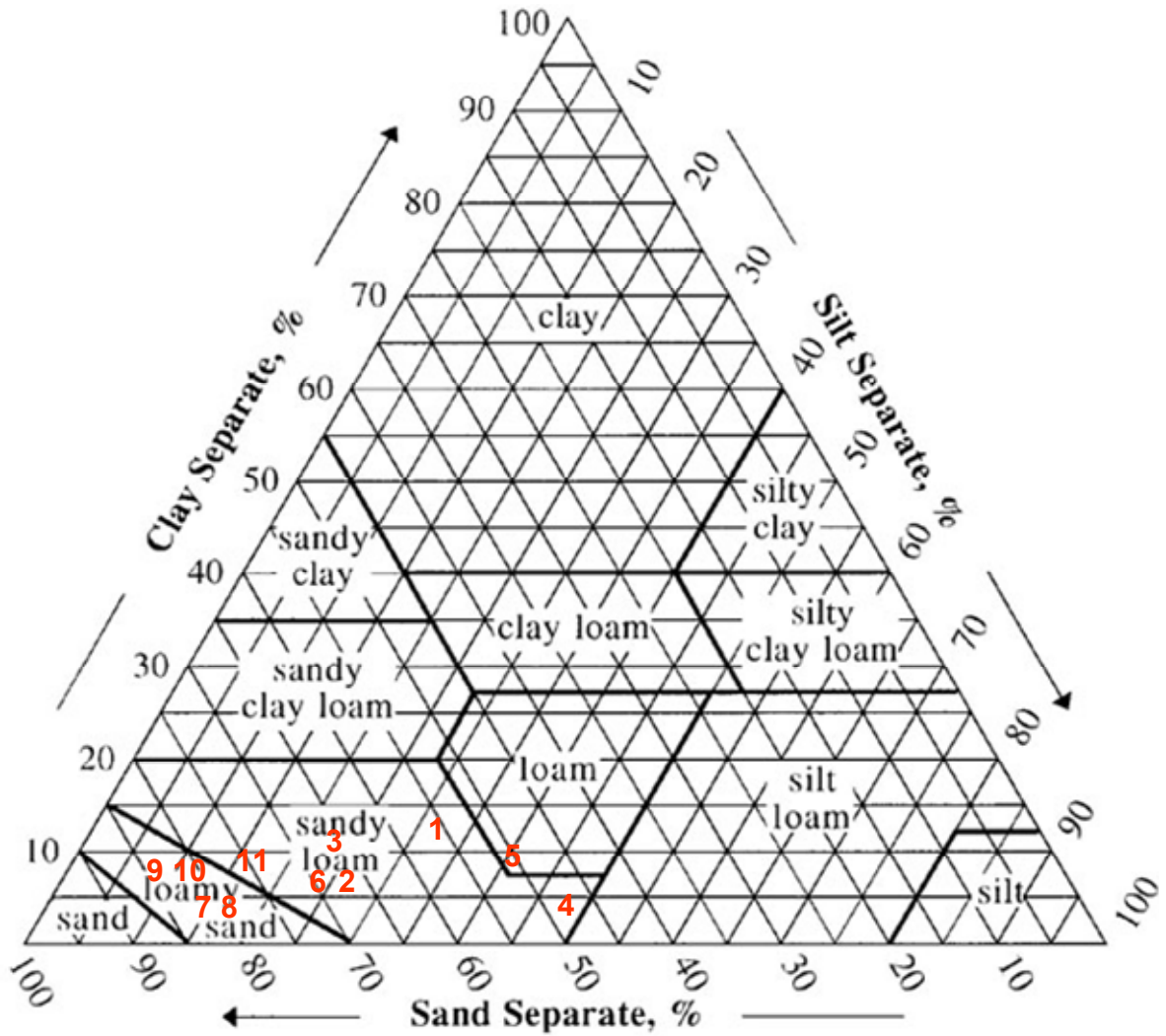


Figura 87.- Representación del análisis granulométrico en el triángulo de texturas.

Tabla 14.- Asignación numérica para los puntos de muestreo reseñados en el triángulo de texturas.

Número en el triángulo	Punto de muestreo	Código de uso
1	NA(B2)	NA = No alterado
2	NA(B1)	
3	PAR(B4)	PAR = pastos y riberas
4	PAR(B8)	
5	PAR(B7)	
6	PAR(B5)	
7	ES(B11)	ES = escombreras
8	ES(B6)	
9	ES(B10)	
10	ES(B9)	
11	ES(B3)	

La mayoría de las muestras se distribuyen entre las clases franco arenosa y arenosa franca, a excepción de la muestra 5 (PAR(B7), que estaría incluida en la clase franca. En todo caso las muestras 4 y 5, PAR(B8) y PAR(B7), son los dos pastizales que se encuentran en la parte más baja de muestreo en la cuenca del Rodrigatos y tienen los contenidos en arena más bajos.

Capacidad máxima de agua

Los valores de la capacidad máxima de retención de agua han dado unos resultados (Fig. 88) entre los que destacan, por elevados, los correspondientes a los puntos de muestreo no alterados NA(B1) y NA(B2). Los valores que continuarían en la serie serían los correspondientes a los puntos de muestreo de pastos/riberas y luego las escombreras ES(B6), ES(B11), ES(B10), ES(B9) y ES(B3), por ese orden, que sería muy parecido al del estado de recuperación/revegetación que presentan. Esta variable tiene correlación positiva muy alta con CO_{FO} ($r = 0,76$).

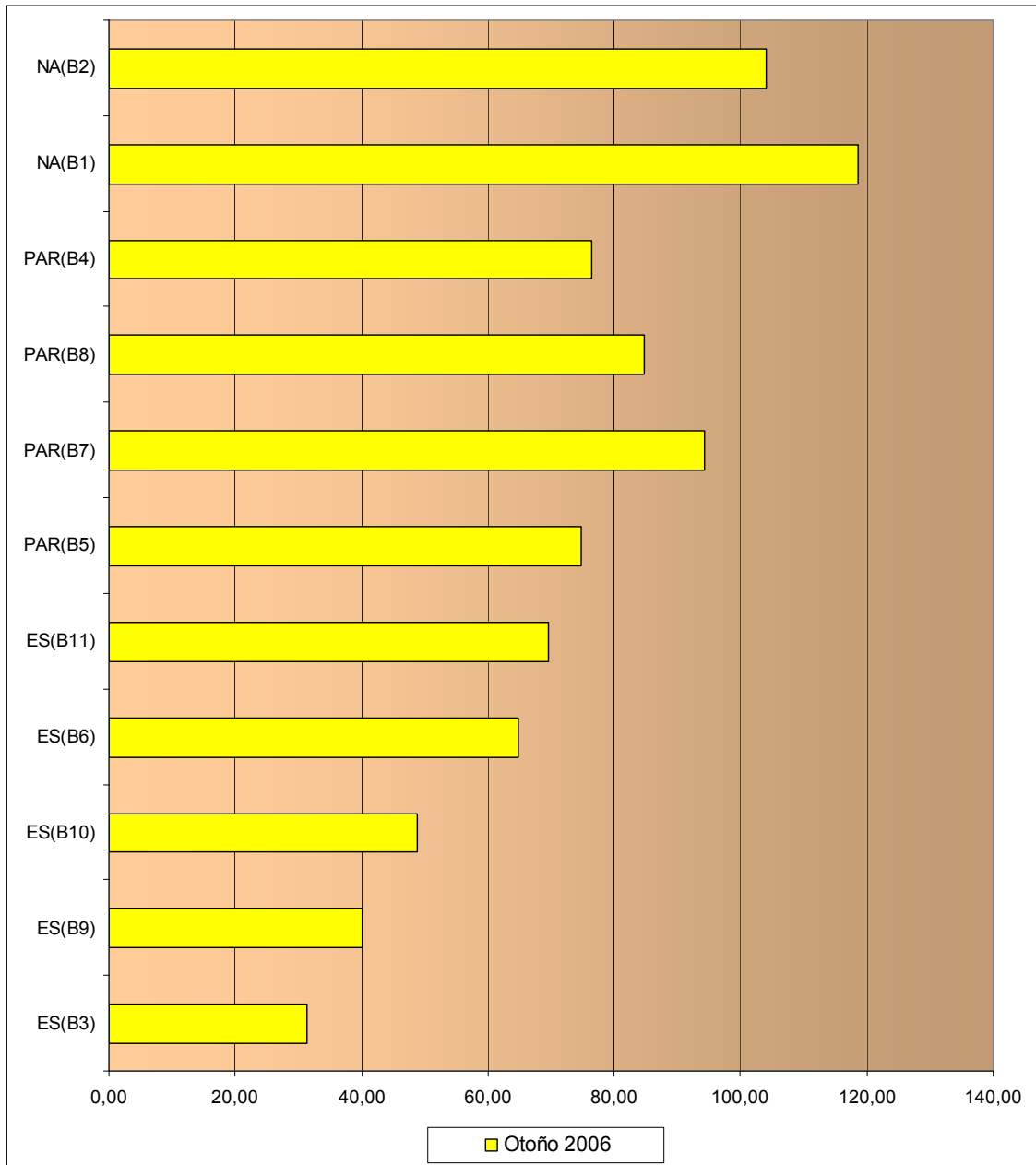


Figura 88.- Capacidad máxima de retención de agua (en ml H₂O 100 g⁻¹ s.s.).

Humedad “in situ”

El valor más bajo es un 24% de contenido en humedad en base a la capacidad máxima de retención de agua (Fig. 89). El resto de valores son mayores y no deberían limitar la actividad microbiológica. En general, las escombreras muestran contenidos en humedad más bajos que el resto de muestras debido a un desarrollo edáfico muy pobre, sin estructura y con una baja capacidad de retención de agua. En la campaña de primavera, la muestra PAR(B7), presentaba un contenido en humedad muy elevado, que superaba el valor de la máxima capacidad de retención de agua estimado en la campaña de otoño,

formalmente se ha representado con un valor de humedad del 100% de la máxima capacidad de retención de agua. Todas las muestras de la primavera, excepto las de las escombreras, se recogieron con humedad superior al 60% de su WHC y un contenido en humedad elevado con respecto al peso fresco del suelo (Fig. 90).

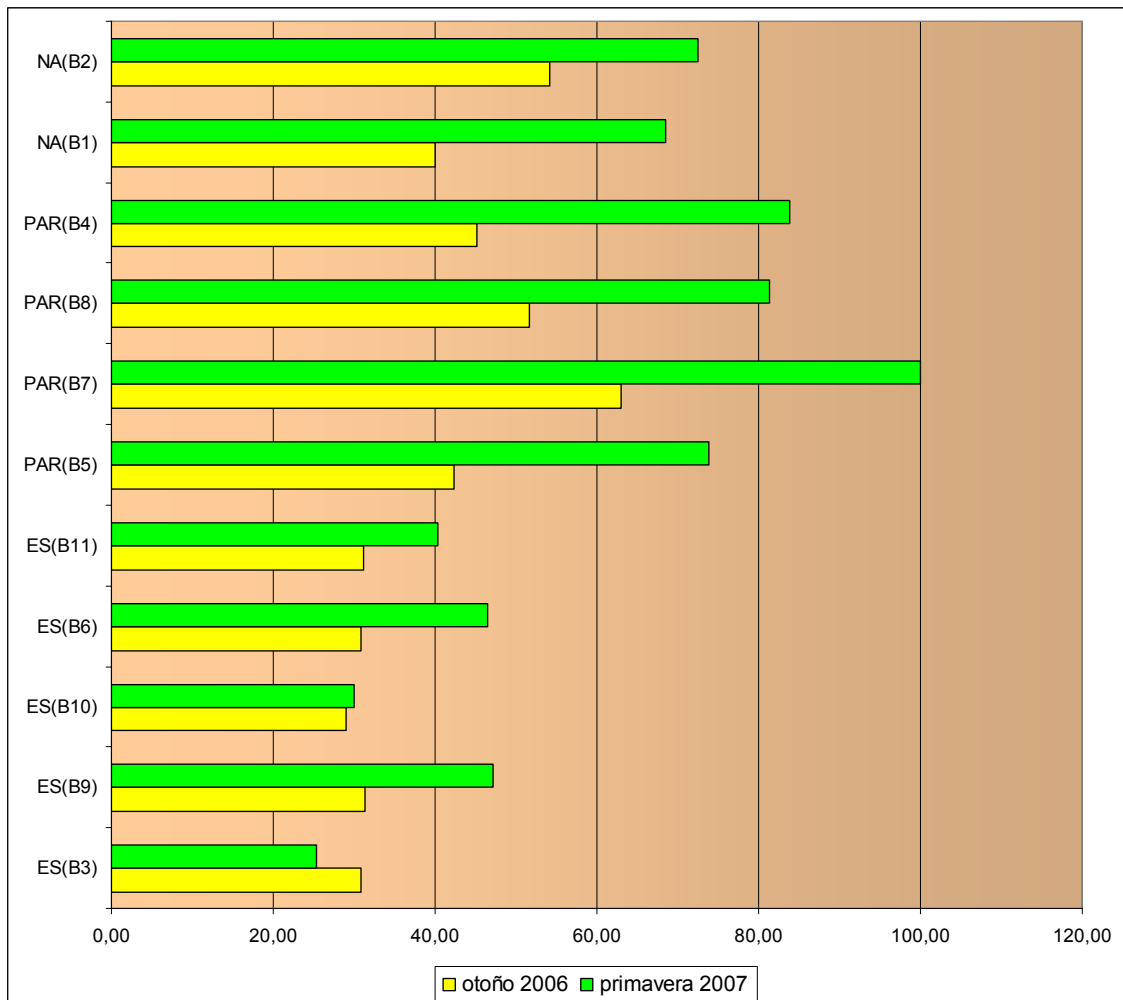


Figura 89.- humedad "in situ" (en % WHC).

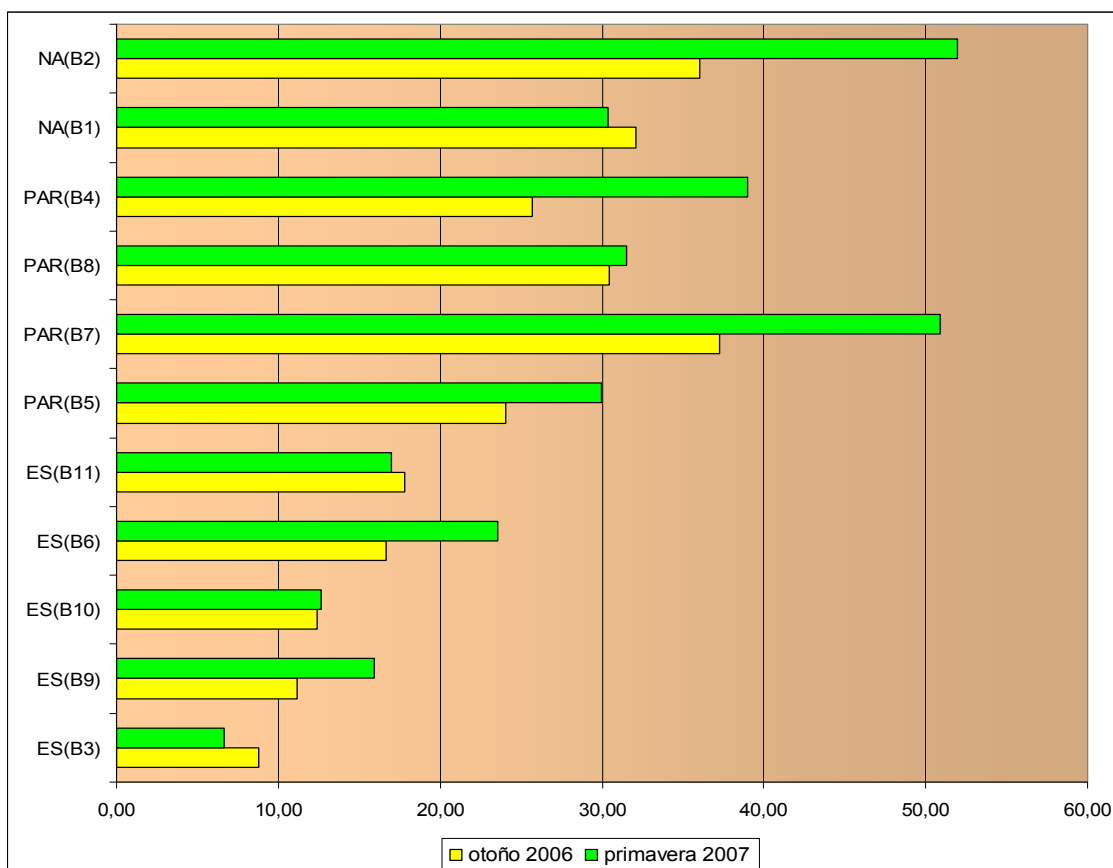


Figura 90.- humedad "in situ" (en % p.f.).

pH en H₂O

Se han obtenido valores de pH en H₂O (Figura 91) que, generalmente, corresponden a suelos ácidos. El brezal NA(B1), la zona de ribera PAR(B5) y todas las escombreras, menos ES(B11), presentan valores por debajo de 5, muy fuertemente ácidos, según la clasificación (USDA 2011a). El robledal NA(B1), presenta valores alrededor de 5, mientras que en los pastizales PAR(B4) y PAR(B8) hemos obtenido valores de pH en agua cercanos a 6. Finalmente es de resaltar los valores muy elevados encontrados en PAR(B7).

El pH ácido en las zonas no alteradas por la actividad minera se debe a la litología del terreno, presencia de pizarras de Luarca, mientras que el pH ácido de las escombreras, tecnosoles, según la clasificación FAO (FAO 2006), se debería a que están formadas por materiales depositados en ellas de carácter ácido, pizarras y areniscas (Mejuto Medieta 2011). La variable pH en agua presenta un valor de correlación alto, significativo y positivo con carbono inorgánico, ($r = 0,82$) y con calcio soluble, ($r =$

0,84), lo que puede indicar el efecto del aporte de carbonato cálcico que afecta únicamente a esta parcela cuyo pH es medianamente básico. El origen de esta alcalinidad es debido a la zahorra caliza utilizada en las obras de mejora de la pista forestal que discurre por la parte superior de esta parcela, y cuyo lavado y posterior escorrentía han constituido un aporte significativo de carbonatos a este pastizal (Mejuto Mendieta 2011).

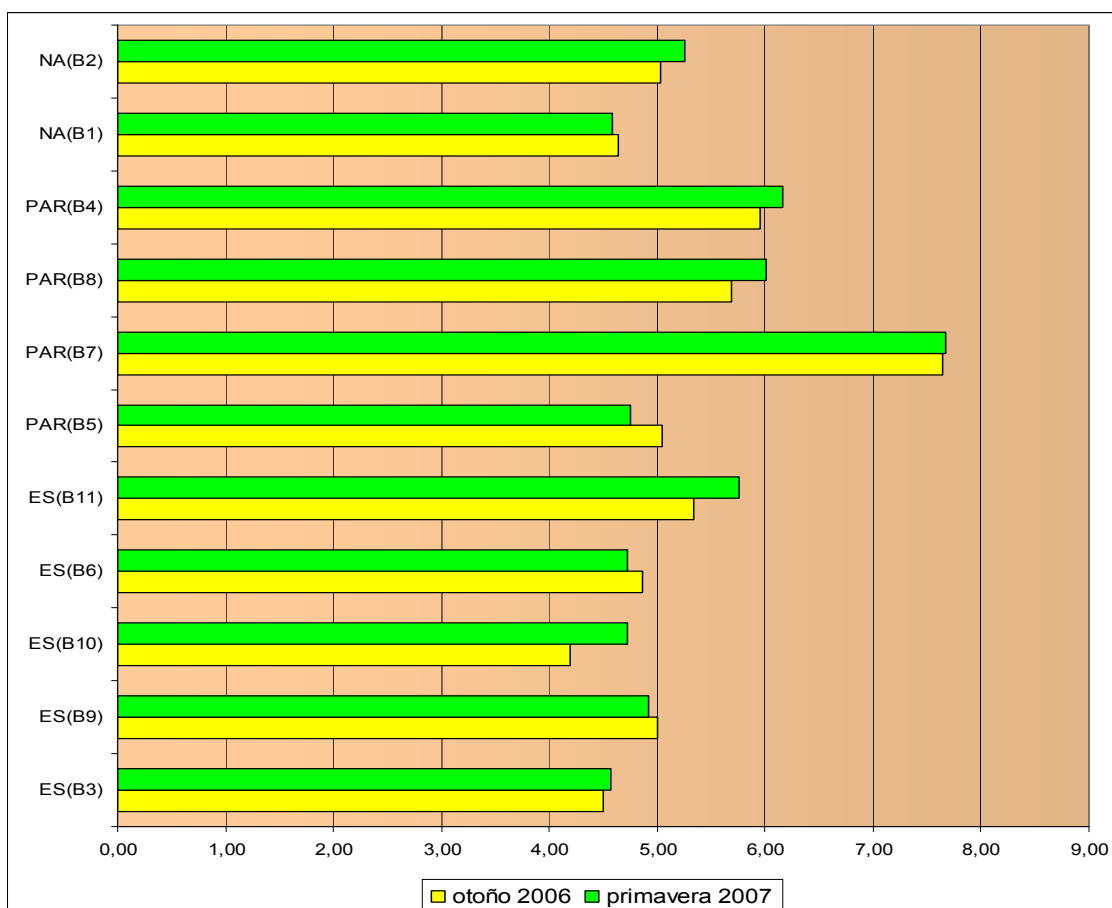


Figura 91.- pH en H₂O.

Conductividad

Los valores de conductividad (Fig. 92), corresponden a suelos no salinos, según la clasificación USDA (USA 2011a), a excepción de la muestra de otoño de 2006 en los puntos de muestreo PAR(B4) y PAR(B8) cuyo valor corresponde a suelos muy ligeramente salinos, y, en esa misma campaña, la muestra NA(B2), que estaría en la categoría de suelos ligeramente salinos.

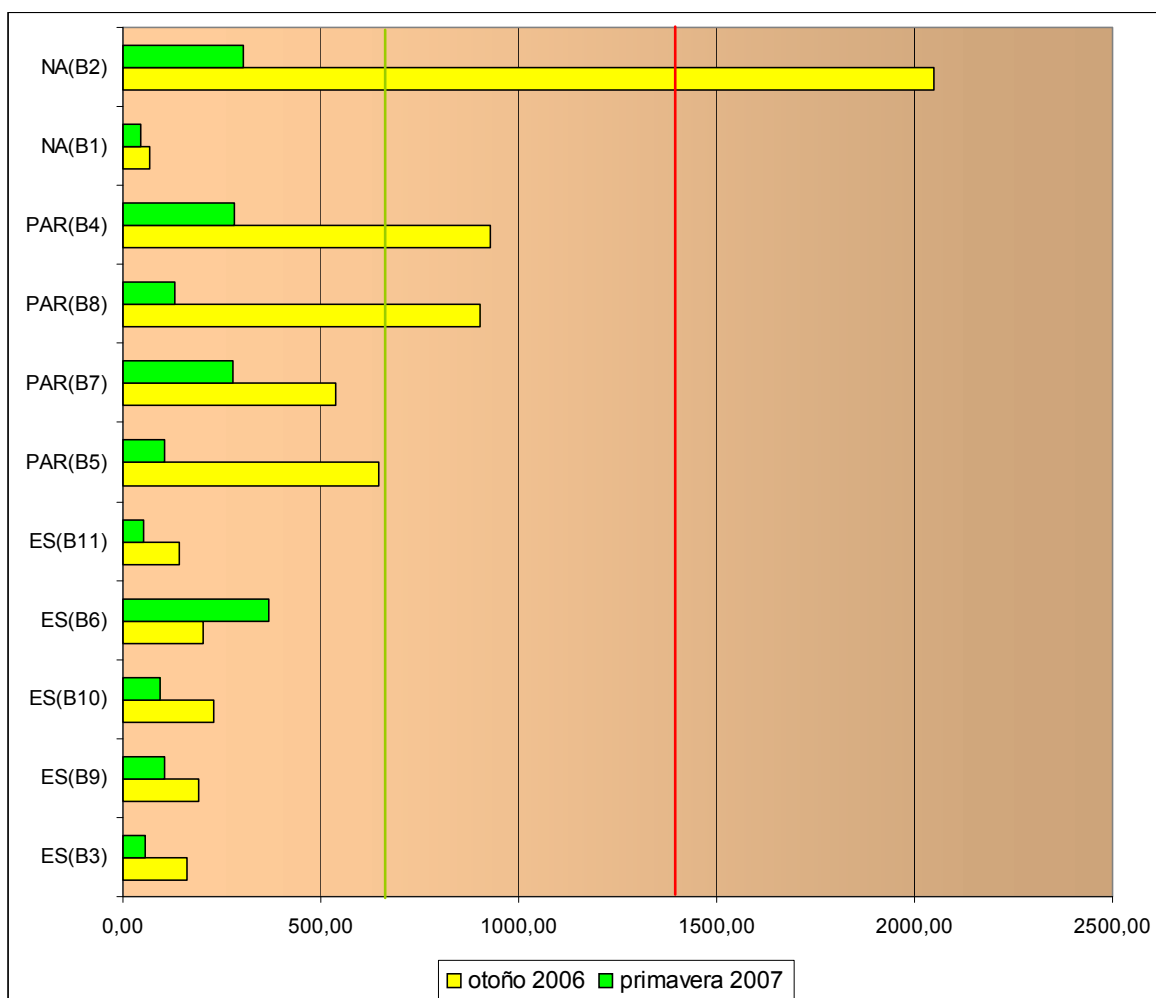


Figura 92.- conductividad a 25°C ($dS\ m^{-1}$) $\times 10^{-3}$. En verde el valor de referencia por debajo del cual son suelos no salinos, entre las líneas verde y roja corresponden con suelos muy ligeramente salinos y por encima de la línea roja son suelos ligeramente salinos (USDA 2011a).

Síntesis de las propiedades físicas y físico-químicas: identificación de las posibles causas de perturbación producidas por las actividades mineras.

Las características físicas y físico-químicas de las muestras de El Bierzo muestran de forma clara los efectos de la actividad minera. La densidad aparente es mayor en las muestras de las escombreras menos recuperadas, ES(B3) y ES(B9), también es elevada en PAR(B5) pero, como veremos a lo largo de este trabajo, las características de este punto de muestreo siempre van a ser más parecidas a las de las escombreras que a las de los pastos y riberas. En el análisis granulométrico, también las muestras de las escombreras presentan un contenido en arena más alto que en el resto de los puntos de muestreo. El efecto de este contenido en arena se ve magnificado si consideramos en general la fracción gruesa que se ha cuantificado como superior al 80% en estos

tecnosoles (Mejuto Mendieta 2011). La capacidad de retención de agua en las escombreras es muy baja y va, en cierta forma, asociada al grado de recuperación de las mismas, así las que presentan menor desarrollo de vegetación, ES(B3), ES(B9) y ES(B10), son las que menos capacidad de retención de agua presentan, teniendo como consecuencia unos contenidos en humedad bajos, comparados con las muestras que no son de escombreras. El valor de pH en H₂O es de carácter ácido en todas las muestras menos en PAR(B7). El pH ácido de las escombreras se debe a los materiales depositados en ellas, pizarras y areniscas, mientras que los valores ácidos en las zonas no alteradas, se deben a la composición litológica del suelo, pizarras de Luarca.

IV.7.- Determinaciones químicas en los suelos de El Bierzo.

En este apartado se incluyen los resultados obtenidos en la caracterización química de los suelos estudiados en el escenario de El Bierzo, comenzando por las variables relacionadas con la materia orgánica de los suelos y concluyendo con los resultados referentes a los cationes solubles determinados en las muestras de El Bierzo.

Carbono y Nitrógeno en las muestras de El Bierzo

En este apartado se presentan los resultados de:

- Carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}).
- Carbono orgánico total (COT).
- Relación carbono orgánico fácilmente oxidable/Carbono orgánico total.
- Carbono total.
- Carbono inorgánico.
- Nitrógeno y relación C/N.

Carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO})

Los valores de carbono orgánico fácilmente oxidable se presentan en la Figura 93, destacando el elevado contenido de CO_{FO} en el robledal y, en general, la diferencia entre los puntos de muestreo de zonas no alteradas por la minería con aquellos correspondientes a escombreras. Entre éstas últimas se observa una graduación desde la ES(B11), con una cobertura vegetal elevada y ES(B3), ES(B9) y ES(B10). Por otro

lado en las muestras tomadas cerca del río, el pastizal PAR(B4) y las muestras de la ribera al pie de la escombrera en PAR(B5) muestran valores más elevados que PAR(B7). Este pastizal también presenta valores más bajos que el punto PAR(B8), muy próximo al anterior pero que se encuentra encima de la pista y sin la influencia del río.

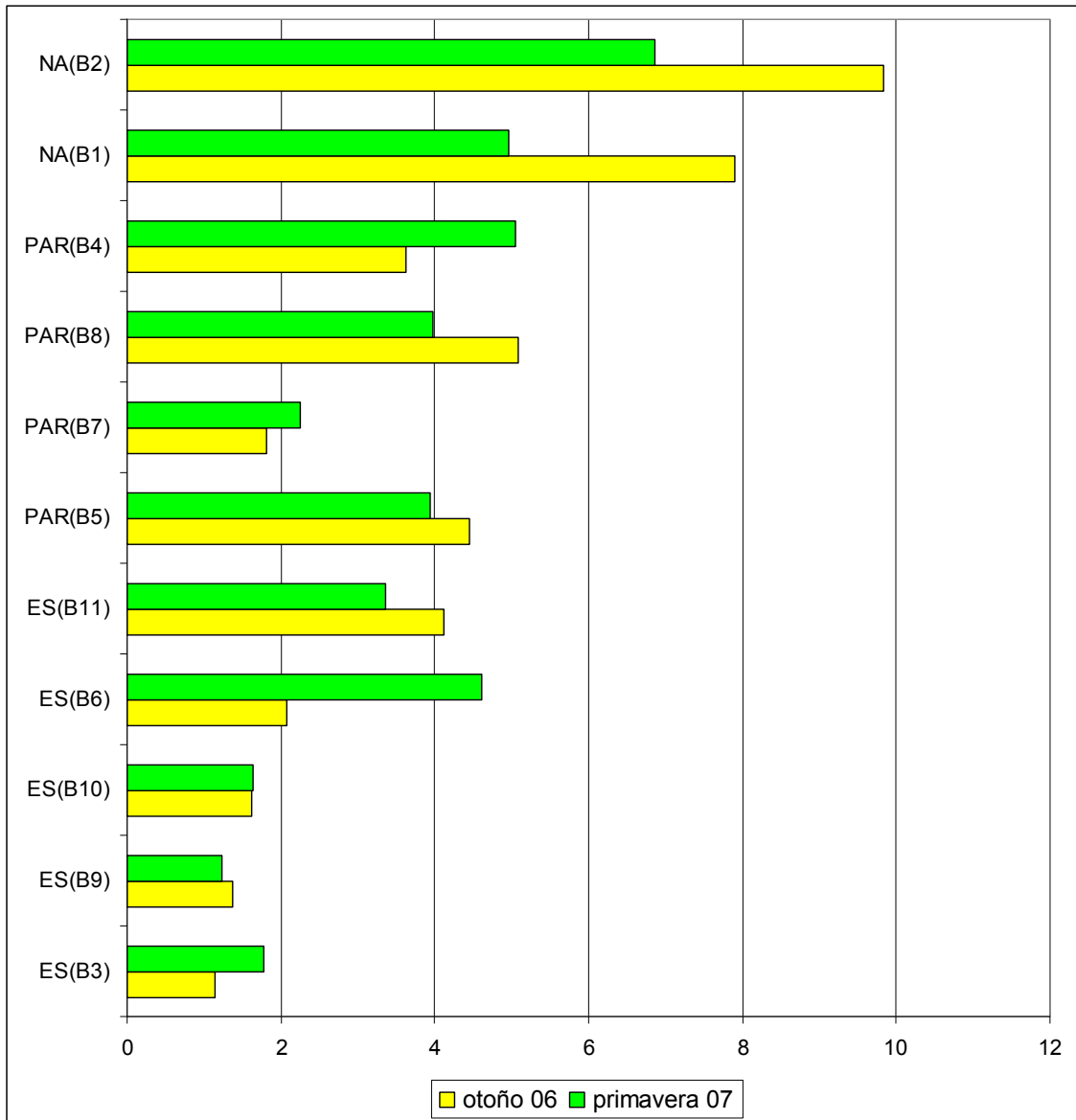


Figura 93.- carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}) (% p.s.).

Variabilidad del carbono orgánico oxidable según la época de muestreo.

No se observan tendencias en los valores de CO_{FO} según la época de muestreo (Fig. 94). Estadísticamente tampoco hay diferencias significativas (ANEXO I). Hay coincidencia de estos resultados con los obtenidos para las mismas parcelas, durante tres años de

estudio (Mejuto Mendieta 2011) con muestras estacionales coincidentes con las mismas épocas que en este trabajo.

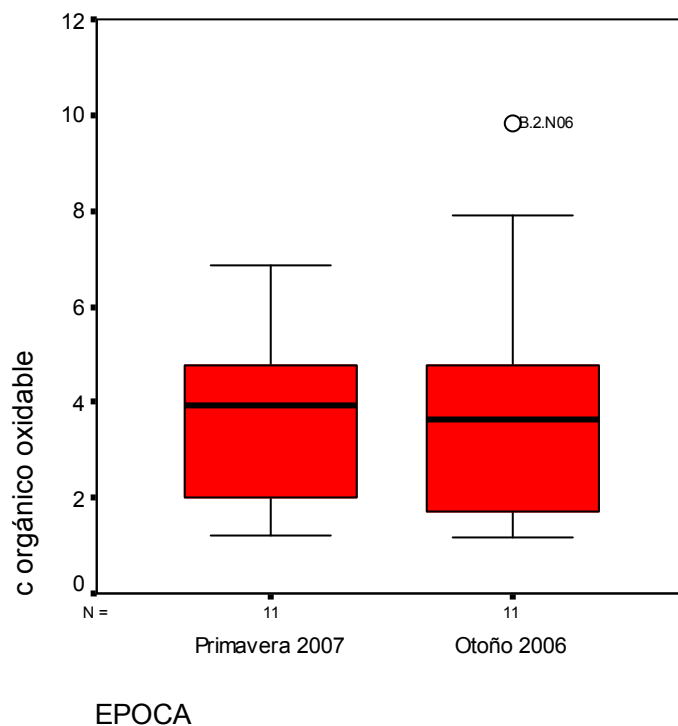


Figura 94.- Diagrama de caja, distribución de carbono orgánico fácilmente oxidable según la época de muestreo.

Variabilidad del carbono orgánico oxidable según el uso del suelo

A pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas entre los usos escombreras y pastos y riberas (ANEXO I), estos últimos tienen tendencia a presentar un contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable mayor que el de las escombreras, tal como se puede apreciar en el diagrama de la Figura 95.

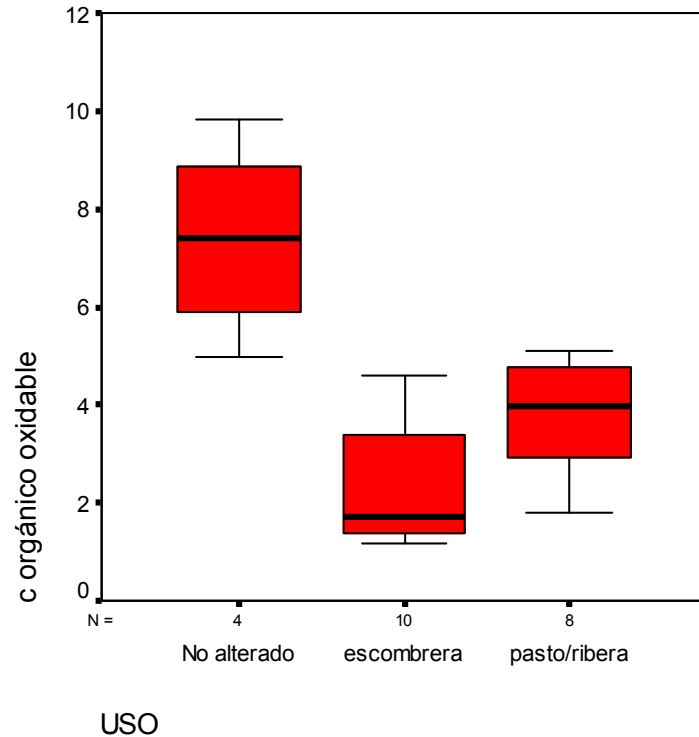


Figura 95.- Diagrama de caja, distribución de carbono orgánico fácilmente oxidable según el uso del suelo.

Carbono orgánico total (COT) y carbono total

En todas las parcelas se observa que el carbono orgánico total (COT) (Fig. 96), presenta valores muy parecidos al carbono total (Figura 97), excepto en la parcela PAR(B7), donde destaca el contenido de carbono inorgánico. Por otro lado, la distribución de valores, clasificando los puntos de muestreo con arreglo al valor de carbono orgánico nos ofrece un perfil distinto al que obtendríamos clasificando los puntos de muestreo por su contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}) (Fig. 93). Es de destacar el elevado contenido de carbono orgánico total en una de las escombreras ES(B11) y en PAR(B5). En este último punto, la influencia del material depositado por el río, proveniente de los depósitos de carbón situados aguas arriba del Río Rodrigatos y del material proveniente de las escombreras que flanquean la zona de muestreo, condiciona su elevado contenido de carbono orgánico total. En algunas escombreras este valor elevado de carbono orgánico puede ser debido al carbón contenido en el material vertido en ellas proveniente de las labores mineras.

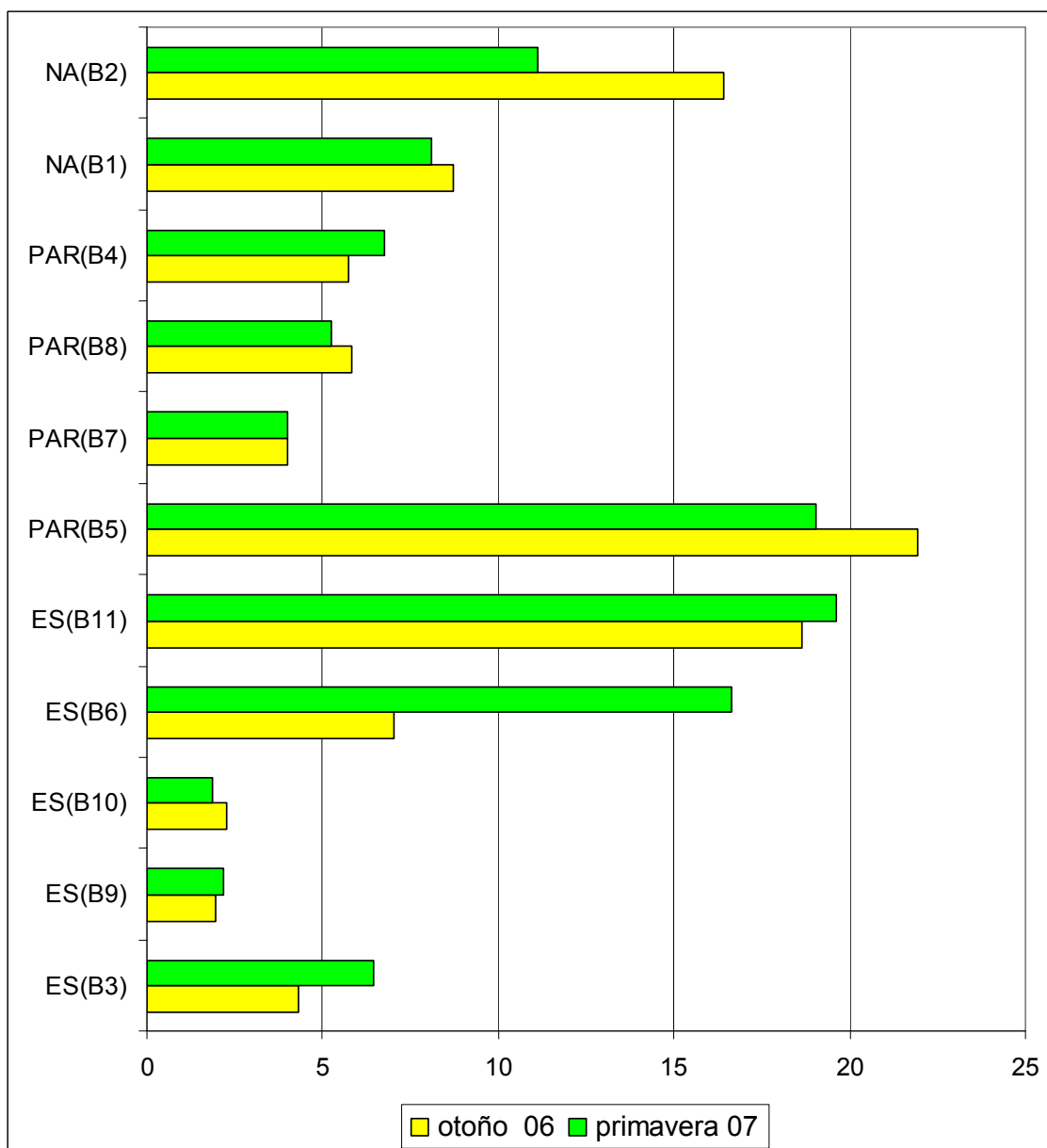


Figura 96.- carbono orgánico total (COT) (% p.s.).

La correlación entre el carbono total y el carbono orgánico fácilmente oxidable es relativamente baja, ($r = 0,48$), lo que puede justificarse en que parte del carbono total contenido en las muestras no proviene de la materia orgánica aportada al suelo por la vegetación.

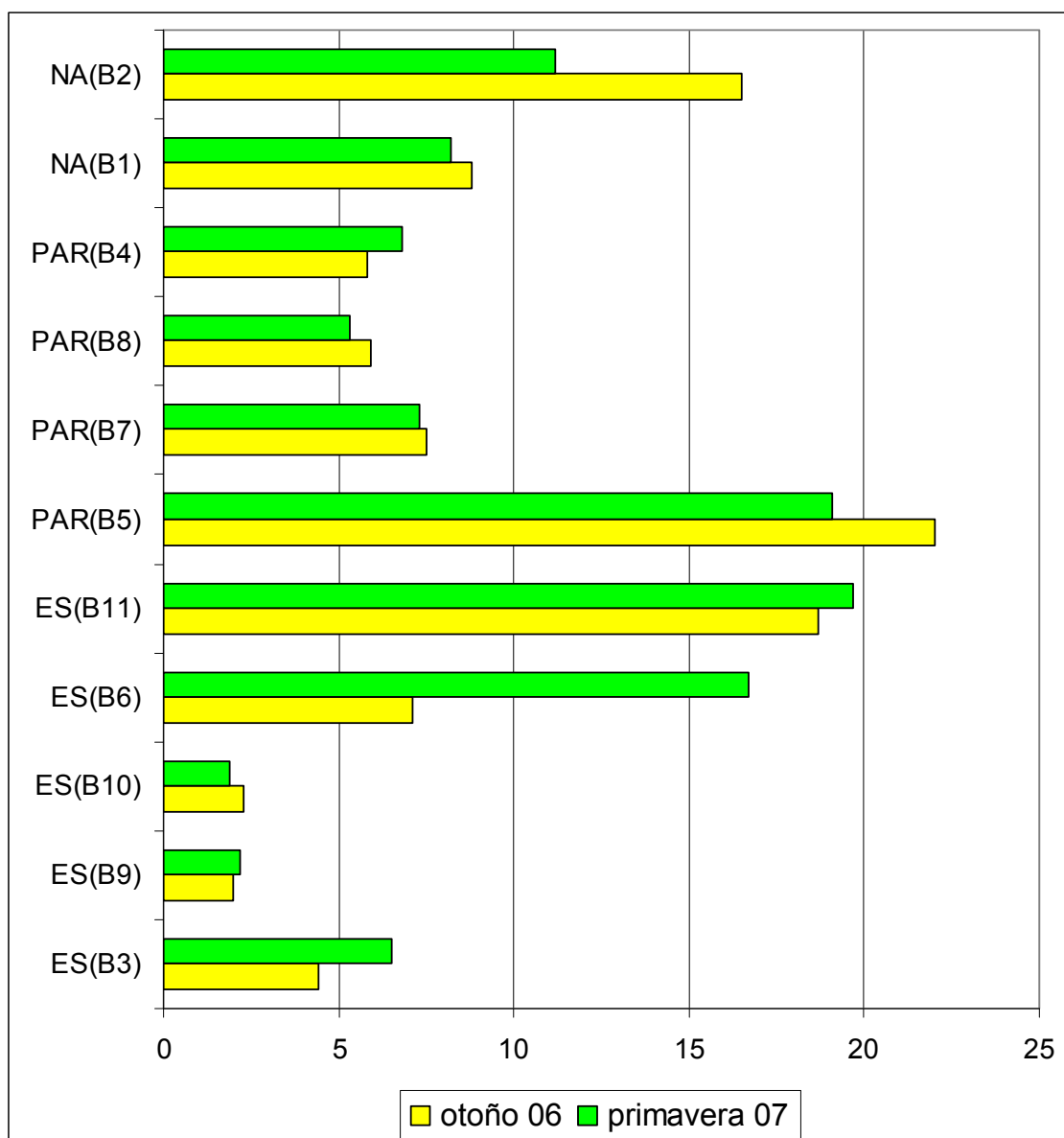


Figura 97.- carbono total (% p.s.).

Relación COT/CO_{FO}

El contenido en carbono orgánico fácilmente oxidable se ha analizado por el método de oxidación por vía húmeda (Walkely y Black 1934) y, para las muestras de El Bierzo se ha aplicado un factor de recuperación de 1,29. El cociente entre el carbono orgánico total y el carbono orgánico fácilmente oxidable (Fig. 98) puede ser un índice de la disponibilidad para la microflora edáfica de la fuente de carbono. Cuanto más alta sea la relación mayor será el contenido de carbono orgánico más recalcitrante a la actividad microbiana. Los valores de la relación entre el carbono orgánico total y el carbono fácilmente oxidable son mayores en las escombreras ES(B11), ES(B6) y ES(B3) y en el

punto de muestreo en la orilla del Rodrigatos PAR(B5). La presencia de este carbono más recalcitrante tendrá implicaciones en la actividad microbiana y en la composición de la microbiota edáfica, e incluso en la interpretación de los resultados de las variables de actividad microbiológica, como puede ser la relación entre el carbono microbiano y el carbono orgánico, que se discutirán más adelante.

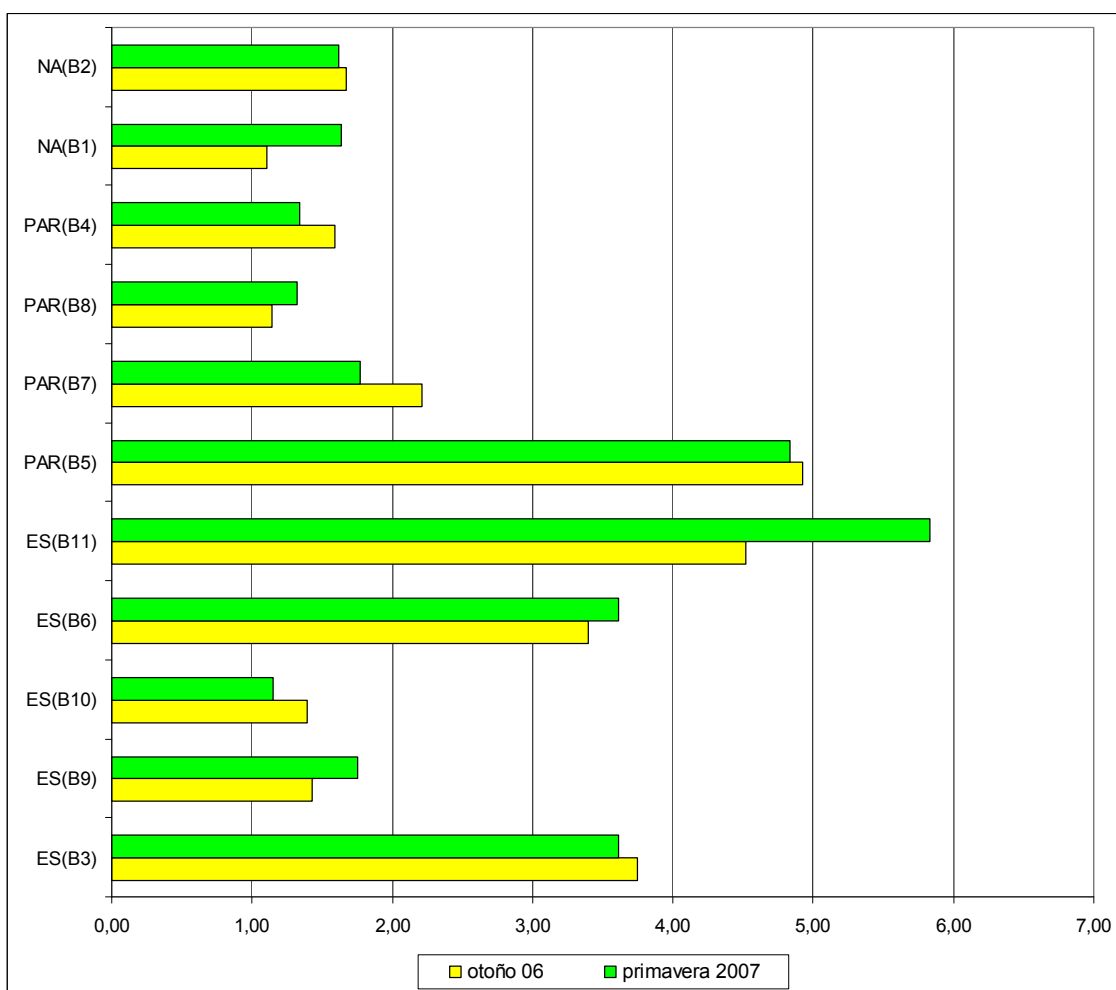


Figura 98.- relación COT/CO_{FO}.

Los valores de la relación COT/CO_{FO} son superiores a 1 en todos los puntos de muestreo. Los resultados cercanos a 1 indican que el CO_{FO} –y por tanto la materia orgánica- es el factor que más contribuye al contenido de carbono orgánico total. Los resultados por encima de 2 indican otros orígenes del carbono: como el carbono orgánico recalcitrante –del black carbon- (Forbes *et al.* 2006), o bien carbono elemental, geogénico o carbono del carbón (Ferrari *et al.* 2002; Kumpiene *et al.* 2011). Durante el manejo de la muestra ES(B11) se aprecia un contenido en carbono proveniente del

carbón considerable y la relación COT/CO_{FO} , viene a confirmarlo. El mismo origen de ese carbono puede darse en las escombreras ES(B3), y ES(B6). El alto valor de esta relación obtenido en PAR(B5) podría explicarse también por carbono procedente del carbón, en parte por las escombreras que flanquean el punto de muestreo y en parte por los acúmulos de carbón en una zona superior a ese punto, una zona de poca pendiente donde en las campañas de campo hemos observado acumulación de carbón, posiblemente arrastrado por escorrentía de las instalaciones mineras que hay aguas arriba.

Variabilidad de los valores de la relación COT/CO_{FO} según la época de muestreo.

El gráfico de la figura 99 muestra la similitud en la distribución de valores de la relación COT/CO_{FO} . Estadísticamente no se puede rechazar la hipótesis de igualdad de medias para esta variable según la época de muestreo (ANEXO I).

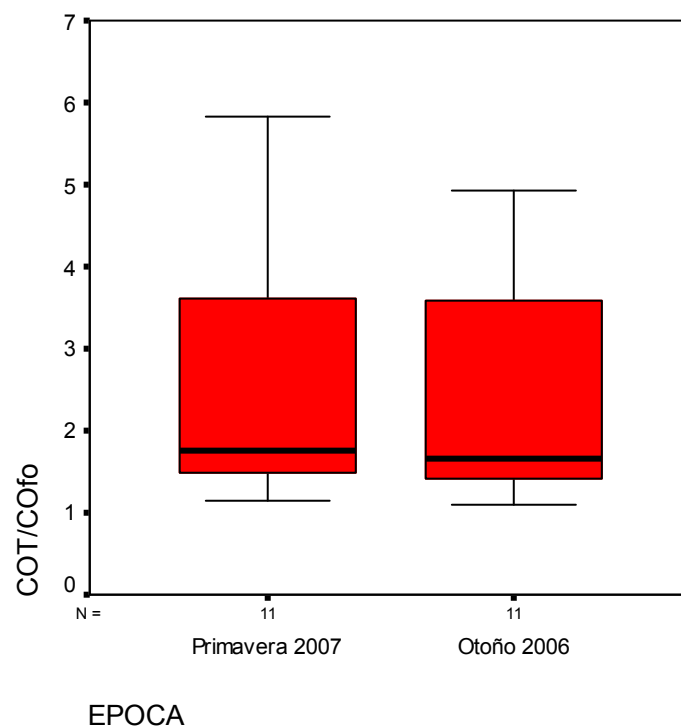


Figura 99.- Diagrama de caja relación COT/CO_{FO} según la época de muestreo.

Variabilidad de los valores de la relación COT/CO_{FO} según el uso del suelo.

El diagrama de caja (Fig. 100) es bastante ilustrativo con un valor de mediana muy alto en escombreras y un valor muy bajo en suelos no alterados. Existen diferencias estadísticamente significativas entre los usos escombrera y no alterado.

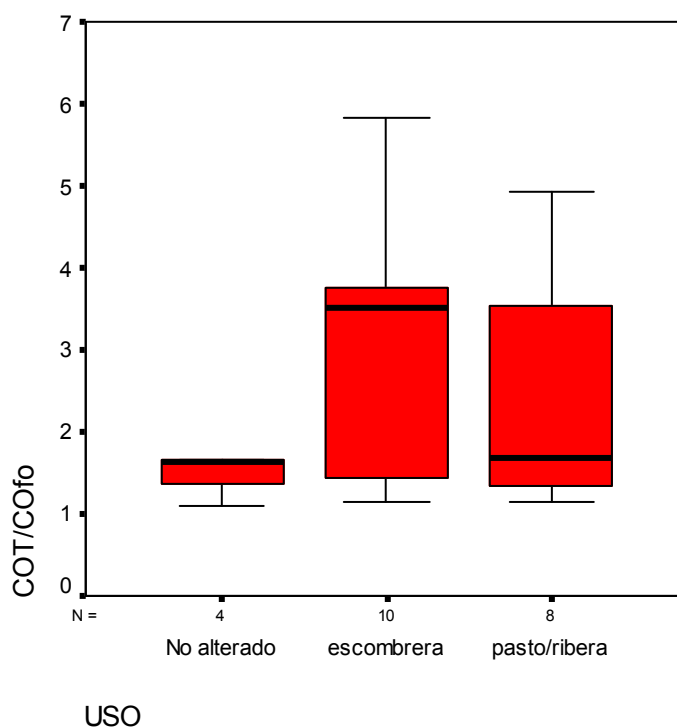


Figura 100.- Diagrama de caja relación COT/CO_{FO} según usos del suelo.

Carbono inorgánico

El carbono inorgánico tiene valores (Fig. 101) generalmente muy bajos, con la señalada excepción del punto de muestreo PAR(B7). La correlación entre carbono inorgánico y pH es alta, significativa y positiva ($r = 0,89$) y es presumible que los valores excepcionalmente altos de pH y carbono inorgánico en PAR(B7) contribuyan a esta elevada correlación que es debida al aporte antrópico de carbonatos mencionado anteriormente (Mejuto Mendieta 2011). Esta circunstancia explicaría tanto el valor de pH como el de carbono inorgánico en ese punto de muestreo.

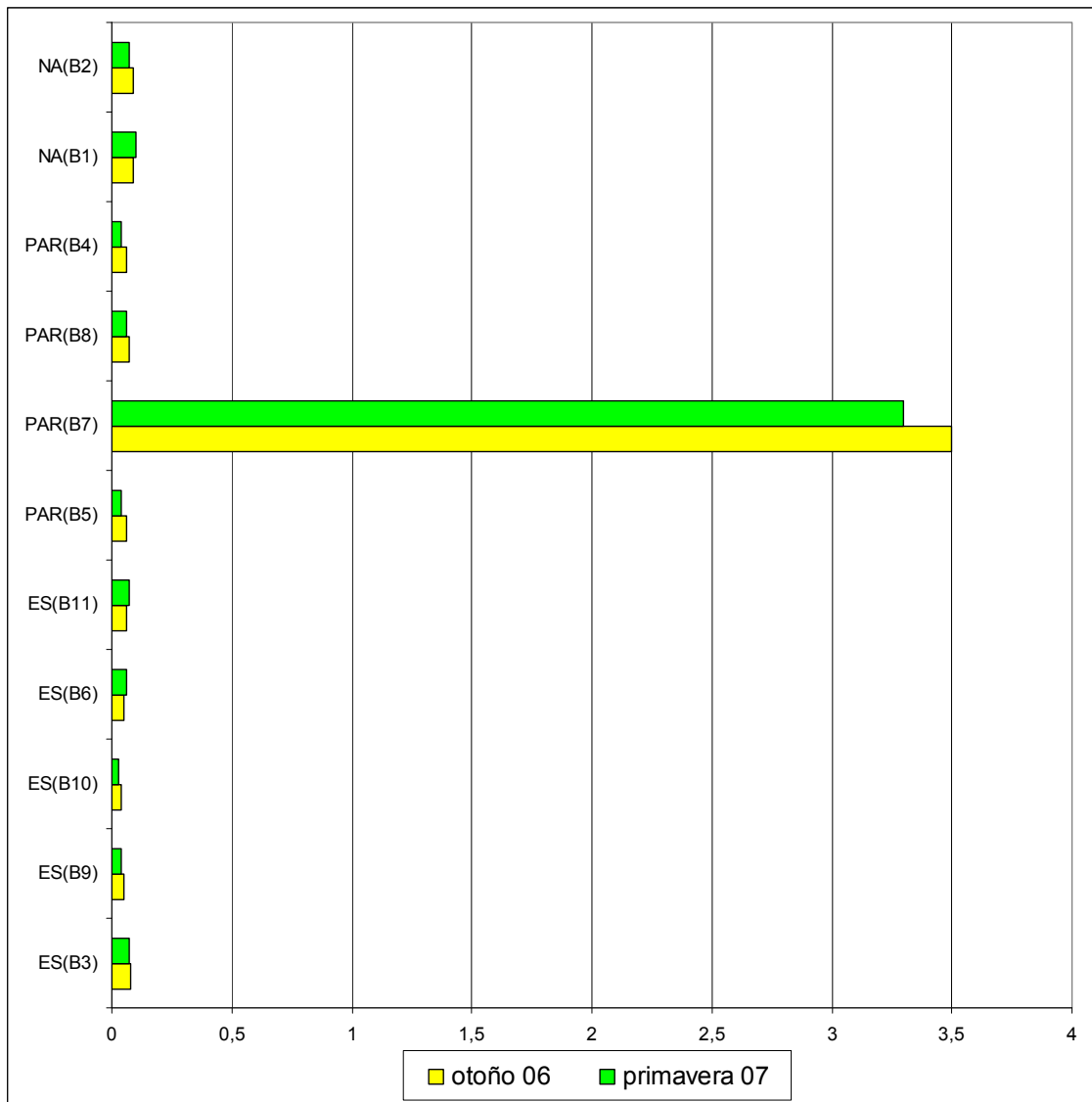


Figura 101.- carbono inorgánico (% p.s.).

Nitrógeno y relación C/N

El contenido de nitrógeno (Fig. 102) varía entre el 0,12 y el 1,05%. Los valores más altos corresponden al robledal, NA(B2), seguido de los puntos de muestreo ES(B11), ES(B6) y ES(B5). Destaca el contenido relativamente alto de nitrógeno en estos puntos, donde hay tanta influencia de aporte de carbono orgánico proveniente del carbón. A pesar de que el carbón de la zona es antracita, con un contenido en nitrógeno muy bajo, esta acumulación de nitrógeno proveniente de la antracita se puede justificar al estar en una forma más recalcitrante para su transformación biológica (Arranz González 2004). Por otro lado hay una elevada correlación entre el contenido total de nitrógeno y el carbono orgánico fácilmente oxidable ($r = 0,84$), lo que apoyaría la idea de que la mayor parte del nitrógeno en las muestras proviene de la materia orgánica del suelo.

Otro dato que puede ser destacable es la diferencia entre el contenido en nitrógeno en dos pastizales, uno con la influencia del río y la pista forestal, PAR(B7), y el otro muy próximo al anterior, PAR(B8), pero sin las influencias mencionadas y que contiene algo menos del 0,5% de su peso seco en nitrógeno, que es aproximadamente el doble de nitrógeno que en PAR(B7).

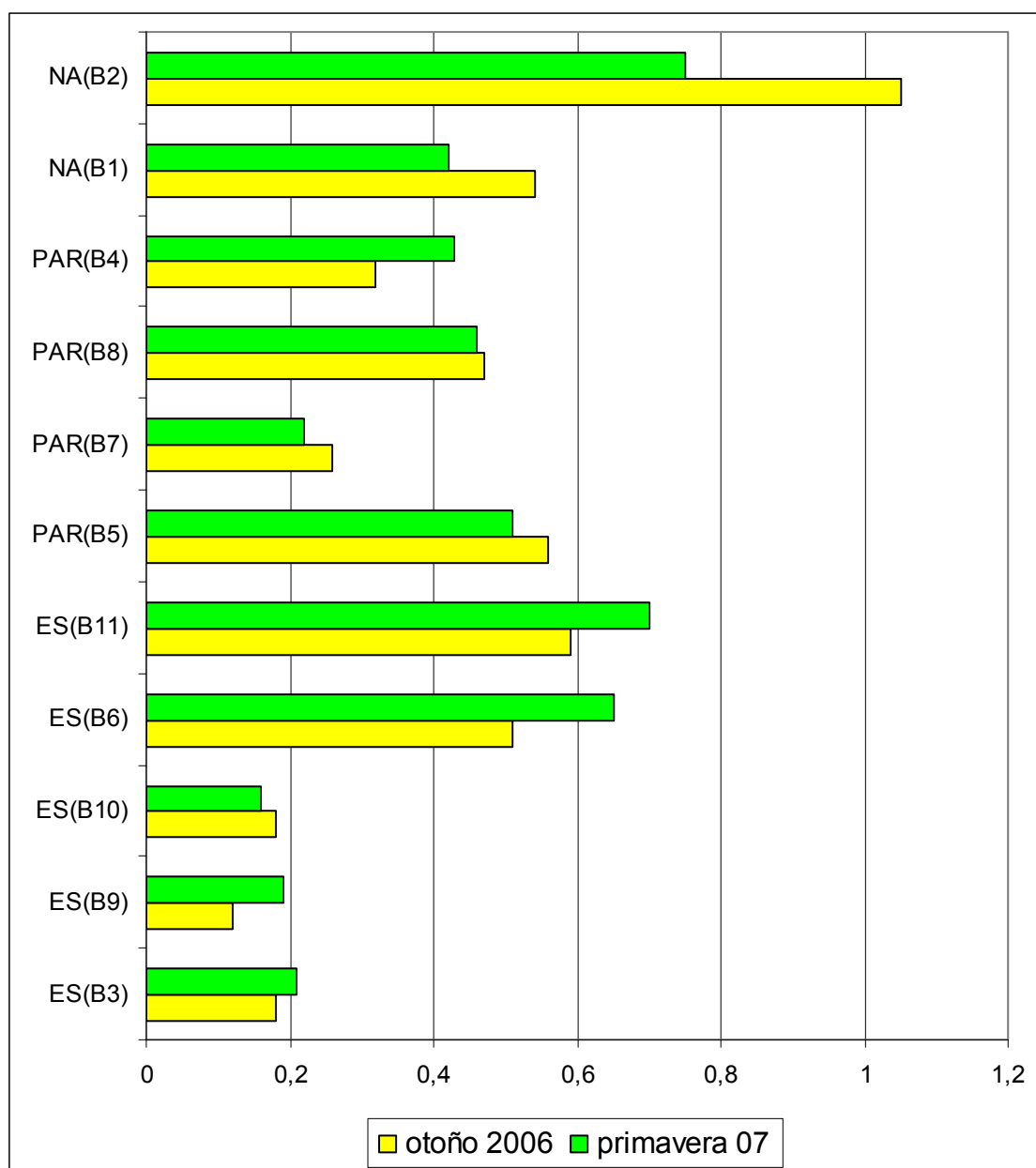


Figura 102.- nitrógeno total (% p.s.).

Relación C/N

Los valores de la relación C/N (Fig. 103), presentan un rango comprendido entre 4,07 y 14,64. La baja relación, por debajo de 5, en las escombreras ES(B6) y ES(B11), puede explicarse por la acumulación de N de la antracita y a unos valores de CO_{FO} relativamente bajos. En algunos puntos de muestreo no alterados por la minería se dan resultados relativamente altos de la relación C/N, pero dentro de un intervalo correspondiente a suelos con un valor de equilibrio entre ambos elementos, así, un valor general de relación C/N en la materia orgánica de los suelos es 10, y que la distribución de valores de esta relación ratio en las muestras de El Bierzo presenta un valor de percentil 75 de 10,9.

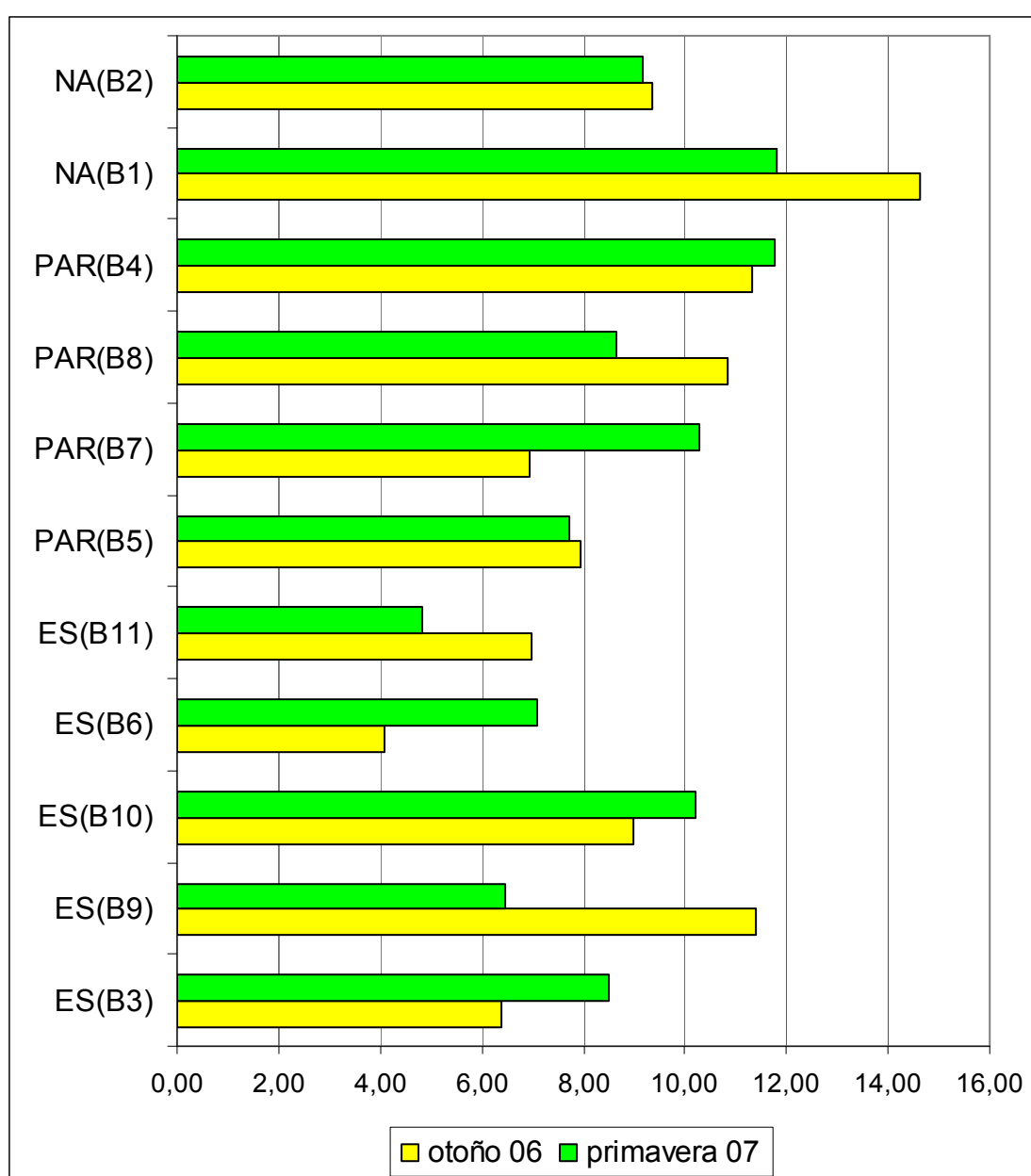


Figura 103.- relación C/N.

Cationes solubles

En las muestras tomadas en otoño de 2006 se analizaron los cationes solubles, cuyos resultados se presentan en los gráficos de las figuras 104 y 105.

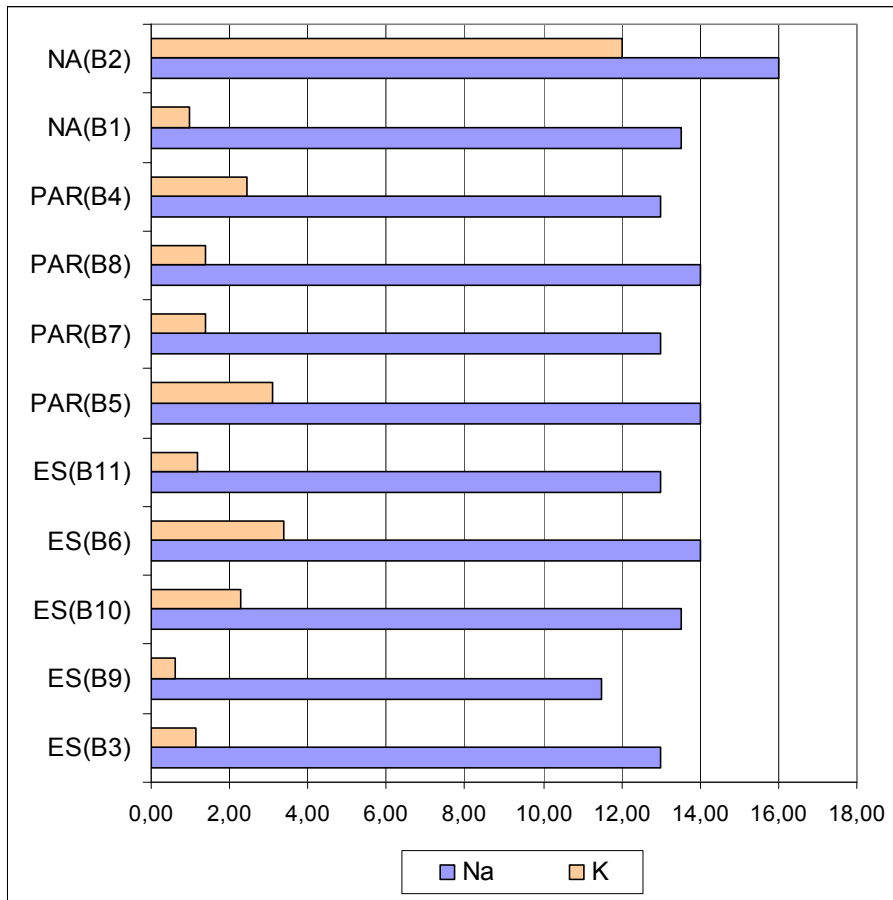


Figura 104.- cationes solubles monovalentes Na y K (mg L⁻¹).

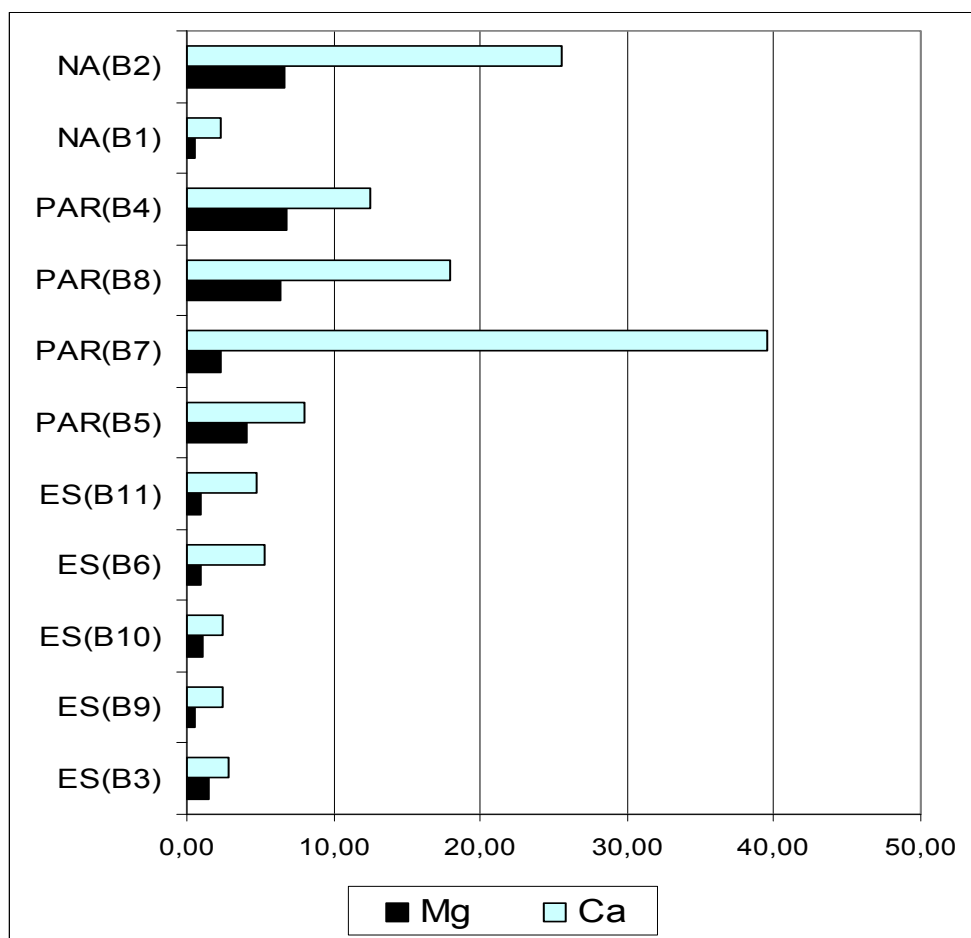


Figura 105.- cationes solubles bivalentes Mg y Ca (mg L⁻¹).

En el caso de los cationes solubles (Figs. 104 y 105), destaca especialmente la elevada concentración de calcio encontrada en PAR(B7). Sobre el origen de este calcio y su relación con el contenido en carbono inorgánico y con el pH, ya se ha comentado su singularidad en los párrafos anteriores y sobre las implicaciones en la actividad microbiológica se comentará más adelante.

Continuación de la discusión sobre el objetivo: identificación de las posibles causas de perturbación del sistema edáfico producidas por las actividades mineras.

En la recapitulación sobre el efecto de las actividades mineras en las características físicas y físico-químicas nuestros resultados indican que en las escombreras es mayor la densidad aparente, mayor el contenido en la fracción gruesa y también que estos tecnosoles presentan una menor capacidad de retención de agua. En buena medida todo lo anterior se debe a un bajo contenido en materia orgánica, por un lado, un mayor desarrollo radicular conduciría a una disminución de la densidad aparente y a un suelo en el que se darían mejores condiciones de aireación. Por su parte, la materia orgánica

proveniente de la necromasa contribuiría con su baja densidad a una disminución de la densidad aparente, así como a un aumento de la fracción menor de dos milímetros y por supuesto a una mayor capacidad de retención de agua. Ahora recapitularemos sobre la materia orgánica como vector de nutrientes y energía. La variable que mejor refleja el contenido de materia orgánica de los suelos es el carbono orgánico fácilmente oxidable (CO_{FO}) y los valores que encontramos en las escombreras son bajos, especialmente en las que menor desarrollo aparentan, ES(B3), ES(B9) y ES(B10), lo que nos indica que la fuente de carbono más fácilmente utilizable por los microorganismos es muy escasa en esos puntos de muestreo. Curiosamente el carbono orgánico total no sigue la misma distribución de valores y encontramos que la relación COT/CO_{FO} es especialmente elevada en las escombreras ES(B11), ES(B3) y ES(B6), además de en PAR(B5). Estos valores elevados son achacables a la aportación de carbono del carbón en la medida del carbono orgánico total, lo que no redundaría en una mayor abundancia de carbono utilizable por los microorganismos. La relación C/N también ofrece valores relativamente bajos en todos los puntos de muestreo, curiosamente la relación C/N es más baja en las escombreras que en el robledal. La relación C/N se calcula a partir del carbono orgánico fácilmente oxidable, muy escaso en las escombreras, y del Nitrógeno total, que si bien presenta valores muy bajos en algunas escombreras, ES(B3), ES(B9) y ES(B10), es algo más elevado en ES(B11) y ES(B6). Estos valores de relación C/N estarían facilitados por un lado por el muy bajo contenido en CO_{FO} en las escombreras menos recuperadas, lo que facilitaría que se pudiera dar una relación C/N baja a pesar de que también presentan un contenido bajo en N. Por otro lado se ha discutido sobre la aportación de N procedente del carbón que se encontraría en las escombreras que presentan un grado de recuperación apreciable, como ES(B11) o bien en la escombrera formada por derrumbes del material depositado en la parte superior de la ladera donde se encuentra el punto de muestreo, ES(B6), además de la aportación de ese nitrógeno recalcitrante en PAR(B5).

IV. 8.- Actividad biológica en los suelos de El Bierzo

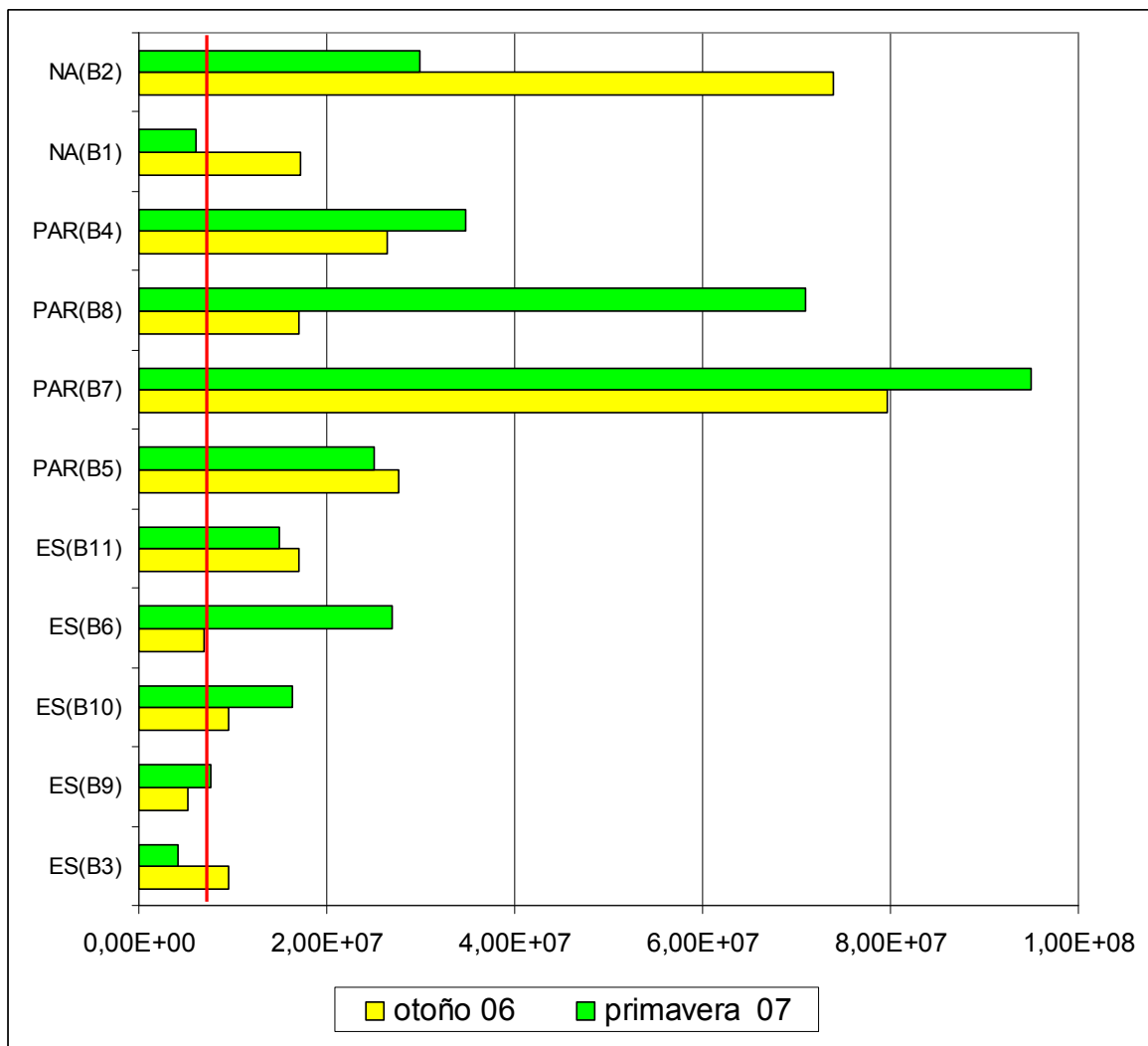
IV.8.1.- Recuentos microbiológicos

Los resultados que se incluyen en este apartado corresponden a:

- Bacterias Heterótrofas totales (BHT).
- Actinomicetos (ACT).
- Relación heterótrofos totales/actinomicetos.
- Bacterias reductoras del sulfato (BRS).

Bacterias heterótrofas totales (BHT)

Las bacterias aerobias heterótrofas presentan valores (Figura 106) que varían entre $4,2 \times 10^6$ BHT g^{-1} en la escombrera ES(B3) y 95×10^6 BHT g^{-1} en PAR(B7). Los valores son sensiblemente menores que en Almadén, quizá el valor en ES(B3) sea más bajo de lo que podríamos considerar un valor medio de 7×10^6 BHT g^{-1} (Alexander 1980). Salvo alguna excepción, los valores obtenidos en las escombreras son los más bajos de los encontrados en El Bierzo. En el lado opuesto destacan como valores elevados los obtenidos en PAR(B7), contrastando con los valores –dispares- uno muy elevado en primavera y otro relativamente bajo en otoño, encontrados en el pastizal cercano PAR(B8). Los valores de BHT tan elevados en PAR(B7) pueden deberse a que a pH básico la población bacteriana prolifera a mayor velocidad que la fúngica (Porta *et al.* 2003), por el contrario, como número de BHT relativamente bajo tenemos el de la zona de brezos NA(B1), con valores de pH entre los más bajos descritos en el Bierzo.

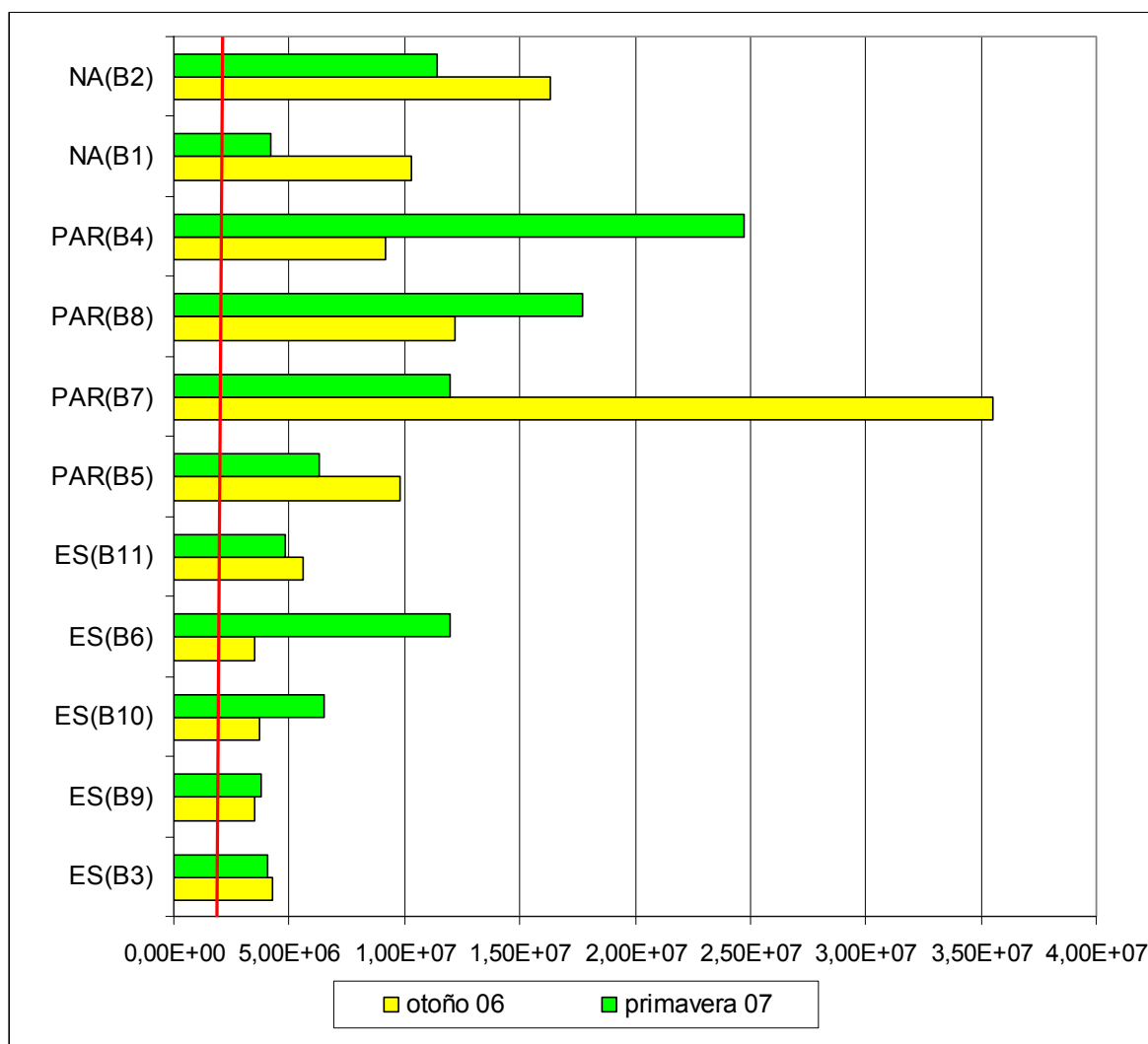


(*) La línea roja es el valor medio de 7×10^6 BHT (Alexander, 1980)

Figura 106.- Heterótrofos totales (BHT g⁻¹).

Actinomicetos (ACT)

Los actinomicetos presentan valores (Fig. 107) entre $3,5 \times 10^6$ ACT g⁻¹ en ES(B9) y un valor máximo, especialmente elevado de 35×10^6 ACT g⁻¹ en PAR(B7) en la muestra tomada en otoño. En el caso de actinomicetos, el valor menor de los expresados está dentro de los que se consideran poblaciones medias, por encima de 2×10^6 células g⁻¹, (Alexander 1980). Los valores más altos, por encima de 10^7 actinomicetos por gramo, los encontramos en los pastizales PAR(B7) y PAR(B8), en una de las muestras de PAR(B4) y en el robleal NA(B2). Los valores más bajos siguen obteniéndose en las escombreras y también un valor bajo, para ser un escenario no alterado por la minería, en el brezal NA(B1).



La línea roja es el valor medio de 2×10^6 ACT g^{-1} (Alexander, 1980)

Figura 107.- actinomicetos (ACT g^{-1}).

Tanto para heterótrofos totales como para actinomicetos el perfil de la distribución de valores es muy similar, y también es alto el coeficiente de correlación entre ambas variables. Básicamente son elevados y positivos con las siguientes variables: máxima capacidad de agua, contenido en humedad, limo y pH mientras que el índice es elevado pero de signo contrario con el porcentaje de arena.

Relación ACT/BHT.

Los valores de la relación entre los actinomicetos y los heterótrofos totales se representan en la Figura 108. Si se considera normal un rango del 10 al 50% de actinomicetos en la población de bacterias (Alexander 1980), en este escenario, con suelos ácidos, el porcentaje de actinomicetos oscila entre el 12,63% en PAR(B7) en la

muestra de otoño y casi el 97% en ES(B3) en la muestra de primavera. Destacan valores bajos en las muestras de primavera en PAR(B7) y PAR(B8), mientras que la muestra de otoño en PAR(B8) presenta el valor más alto de los obtenidos en esa estación. Podríamos esperar porcentajes elevados en puntos de muestreo donde la fuente de carbono provenga de compuestos más complejos, donde estuviera alterada por ejemplo por el incendio en NA(B1). En este último caso si presenta valores relativamente elevados. Se podría esperar que la mayor versatilidad catabólica de los actinomicetos les confiriera una ventaja en ambientes donde el carbono geogénico es mayor, pero no existe correlación entre la relación ACT/BHT y la relación COT/CO_{FO}, a pesar de los valores especialmente elevados de la relación ACT/BHT en ES(B3) en la muestra de primavera, pero los valores tan bajos tanto de BHT como de ACT en este punto de muestreo hacen que la relación tenga unos valores un tanto impredecibles.

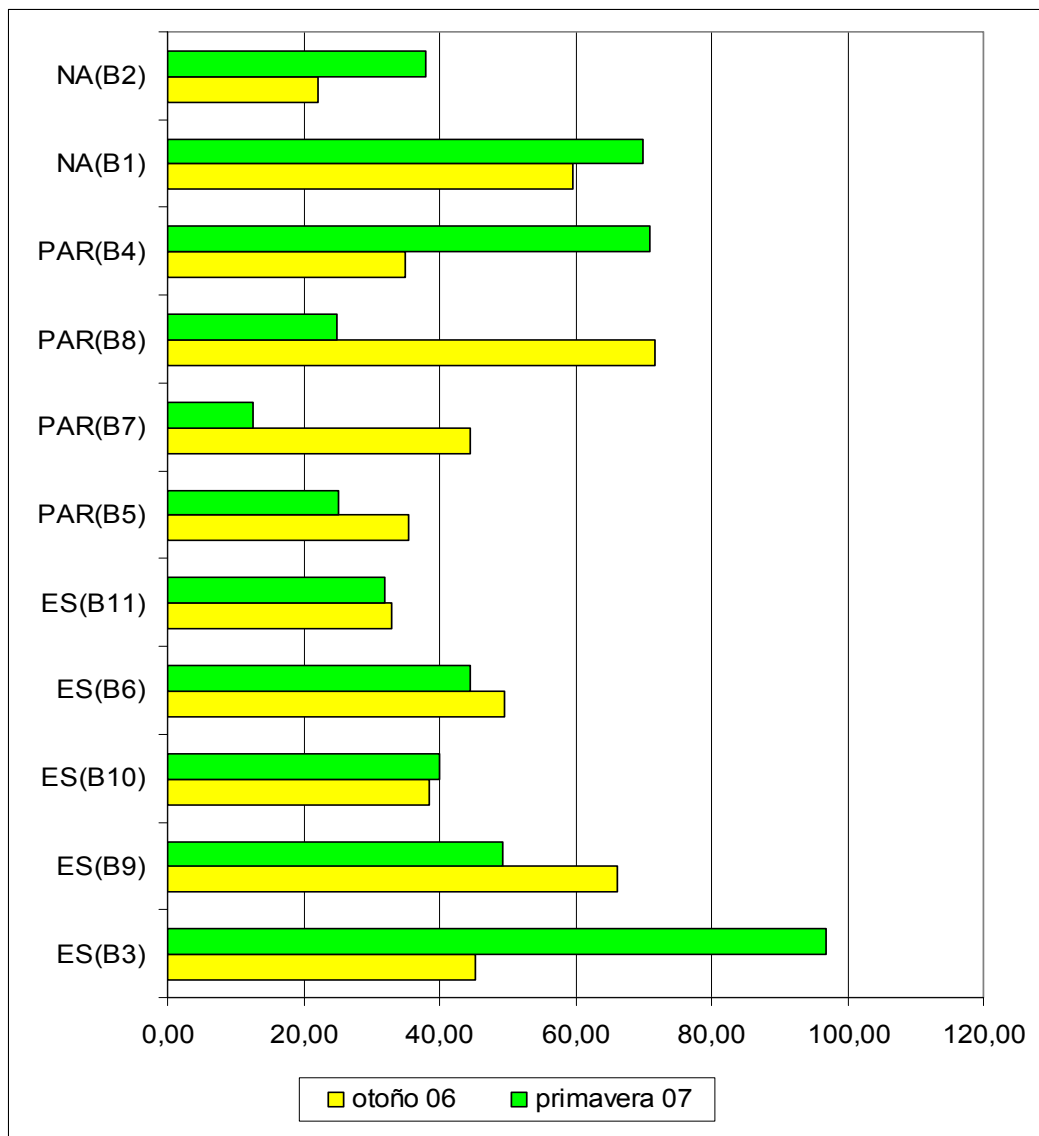
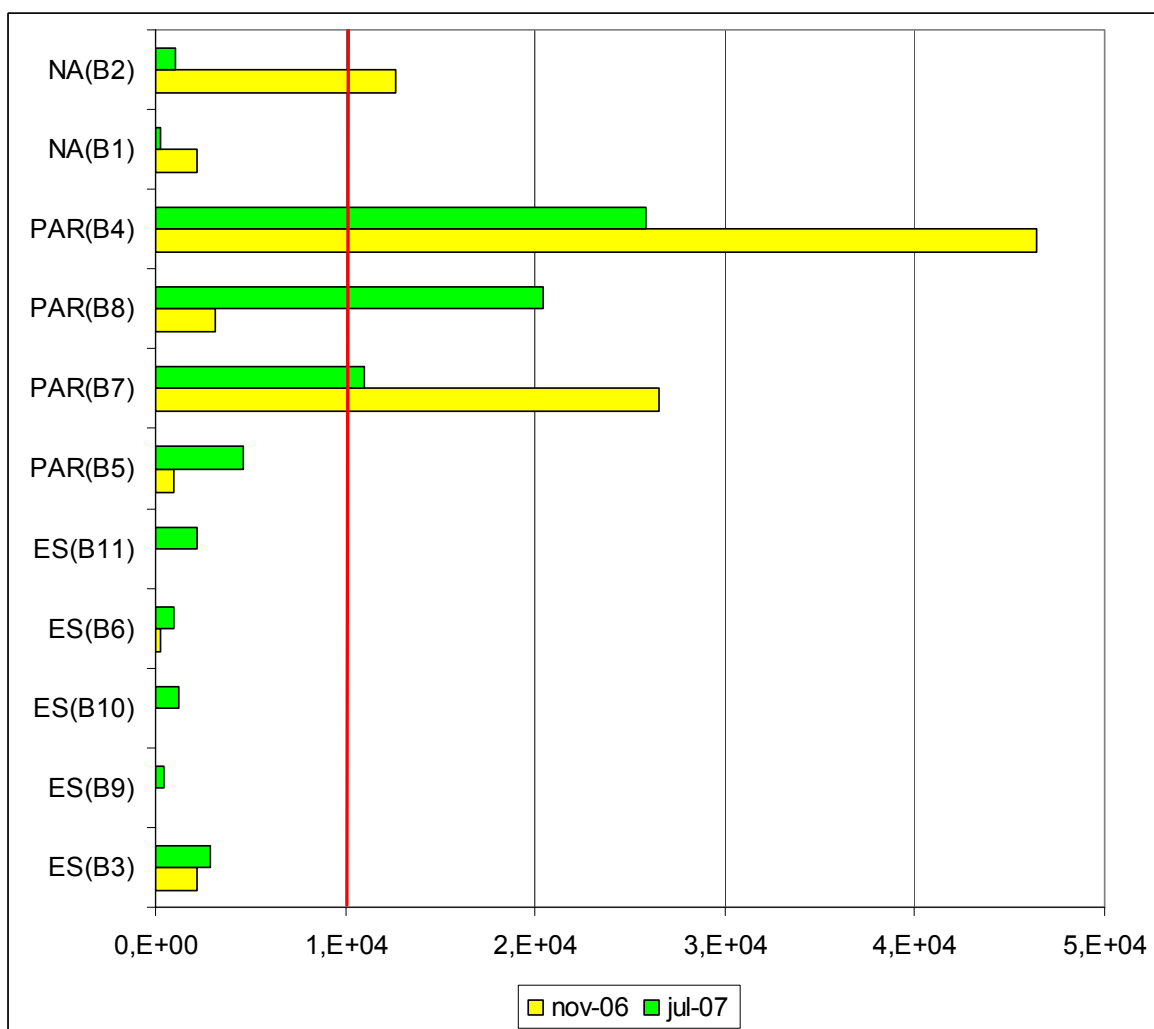


Figura 108.- Relación heterótrofos totales/actinomicetos.

Bacterias reductoras de sulfato (BRS)

El número de bacterias reductoras de sulfato en suelos debería ser, en condiciones normales de aerobiosis, menor de 10^4 por gramo de suelo (Alexander 1980). Por encima de ese valor encontramos los pastizales y riberas PAR(B4), PAR(B7) y PAR(B8) y el robledal NA(B2). La mayor parte de los valores (Fig. 109) están por debajo de esa cifra, sólo seis puntos de muestreo superan ese valor y de ellos, cuatro corresponden a zonas próximas al río, PAR(B4) y PAR(B7), en ambas campañas de muestreo y las otras dos a PAR(B8) en la muestra de primavera y al robledal NA(B2) en la muestra de otoño. Los valores obtenidos en los pastos y riberas son más elevados que en los otros tipos de usos/estado de suelo.



La línea roja es el valor medio de 1×10^4 BRS g^{-1} (Alexander, 1980)

Figura 109.- Bacterias reductoras de sulfato (UFC g^{-1}).

IV.8.2.- Variables de la actividad microbiológica

En esta apartado se presentan los resultados correspondientes a:

- Carbono de la masa microbiana estimado por respirometría inducida por sustrato (C_{mic} SIR).
- Respirometría basal.
- Cociente metabólico.
- Tasa máxima de respiración.
- Relación C_{mic}/C_{org} .

Carbono de la masa microbiana estimado por respirometría inducida por sustrato. C_{mic} (SIR)

El rango de valores obtenidos (Fig. 110) oscila entre un mínimo de 35,3 mg C_{mic} kg⁻¹ en ES(B3) en primavera y un máximo de 855,54 mg C_{mic} kg⁻¹ en NA(B2) en otoño. Sólo el valor de ES(B3) se encuentra por debajo del valor mínimo del intervalo, entre 150 y 2.400 mg C_{mic} kg⁻¹, obtenido en la descripción del método (Anderson y Domsch 1978), Los valores de ES(B9) y algún valor de PAR(B5) están muy próximos al valor mínimo de ese rango. Los resultados obtenidos en el robledal, NA(B2), se encuentran en el rango de valores descrito, en horizontes Ah de suelos (Leirós *et al.* 2000), o en muestra superficial de suelo (Díaz-Raviña *et al.* 1988) de este tipo de bosques, en Galicia.

La tipificación del uso/estado del suelo si influye en los valores de C_{mic} obtenidos (Figuras 110 y 112). Así, los valores más bajos los encontramos en las escombreras, valores medios en los pastizales y riberas y los valores más altos en las zonas no alteradas por la actividad minera. Los valores de C_{mic} encontrados en las escombreras parecen seguir un gradiente con arreglo a su estado de recuperación, en el orden ES(B3), ES(B9), ES(B10), ES(B6), ES(B11).

Particularizando para los pastizales y riberas, en PAR(B5) los valores son más bajos que en alguna de las escombreras, quizá efecto del material transportado por el río y arrastrado desde las escombreras que flanquean el punto de muestreo. Otro punto de muestreo que requiere cierta interpretación en lo que se refiere a los valores de C_{mic} es

PAR(B7). En este caso se podría pensar que, debido a su valor de pH y su contenido en carbono inorgánico y calcio, apareciera una aportación abiótica de dióxido de carbono y, en consecuencia, un valor de $C_{mic}(SIR)$ sobrevalorado (Martens 1987; Sparling y West 1990). No obstante, sus valores de cociente respiratorio (Figs. 125 y 126) son claramente inferiores a 1, que sería el valor esperado para la mineralización de la glucosa en un tiempo tan corto de ensayo (Theenhaus *et al.* 1997; Dilly 2001), por lo que se puede considerar que la aportación abiótica de CO_2 es despreciable en la estimación del valor C_{mic} .

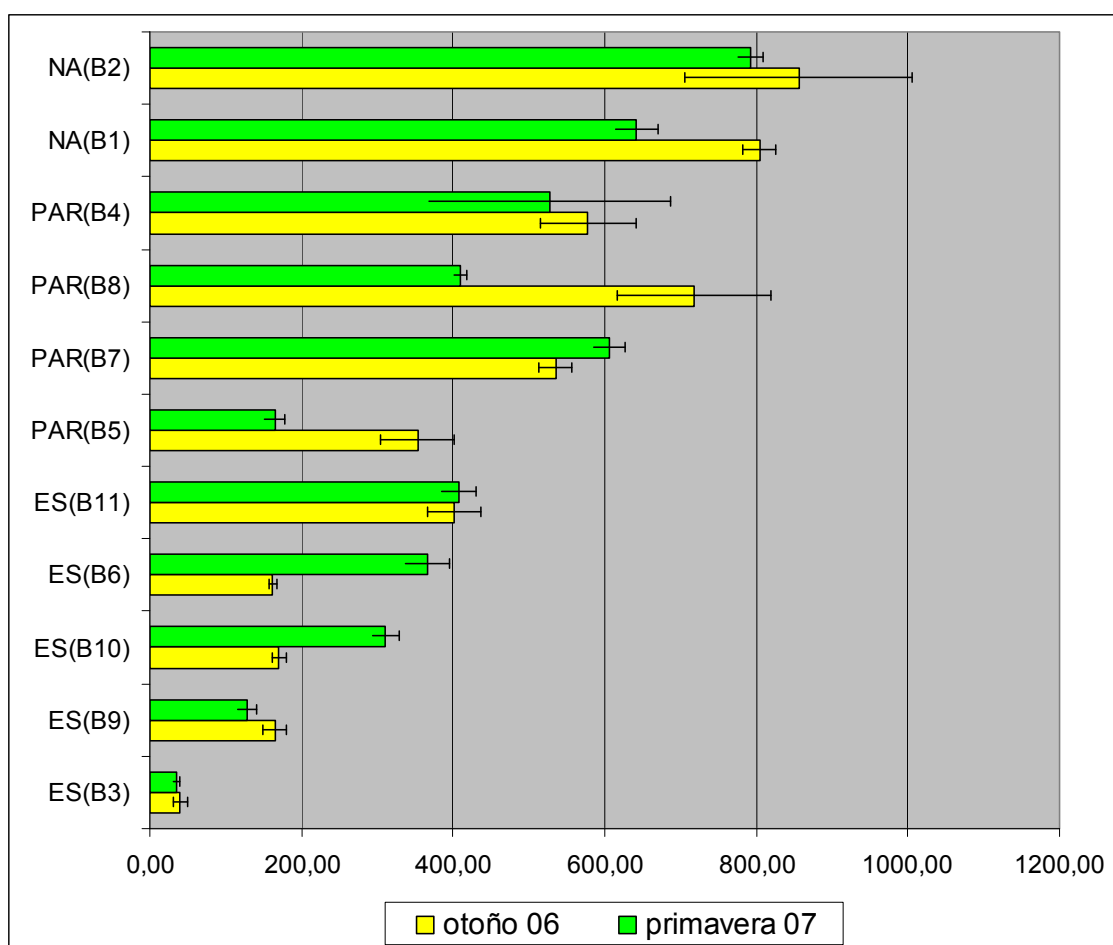


Figura 110.- carbono de la masa microbiana (mg C_{mic} kg^{-1}).

Variabilidad del carbono de la masa microbiana (C_{mic} SIR) debida a la época de muestreo

La mediana de la distribución de valores de C_{mic} (SIR) según la época de muestreo es muy similar (Fig. 111). Estadísticamente no se puede descartar la hipótesis de igualdad de medias (ANEXO I).

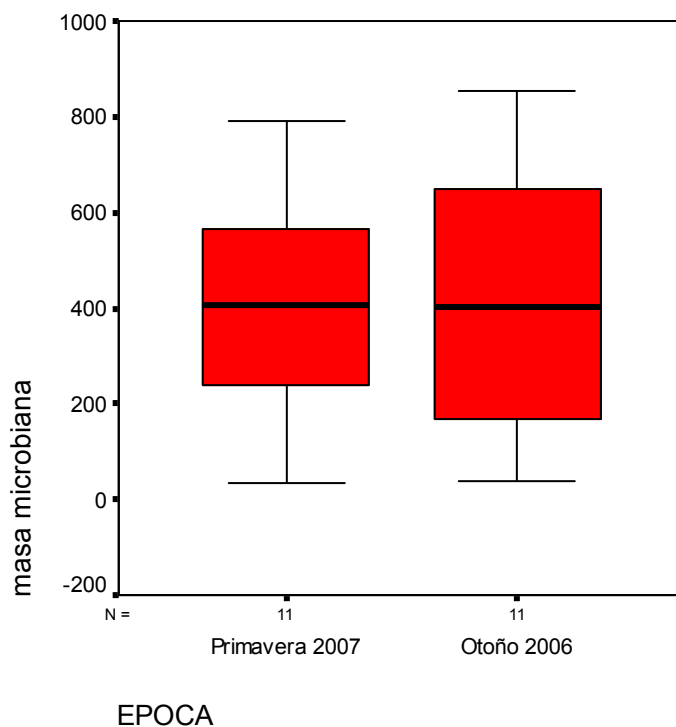


Figura 111.- Diagrama de caja, distribución de carbono de la masa microbiana según la época de muestreo.

Variabilidad del carbono de la masa microbiana (C_{mic} SIR) debida al uso del suelo.

El gráfico de la Figura 112 recoge una representación de las diferencias en la distribución de la variable masa microbiana según el uso. Existen diferencias estadísticamente significativas para todos los usos (ANEXO I).

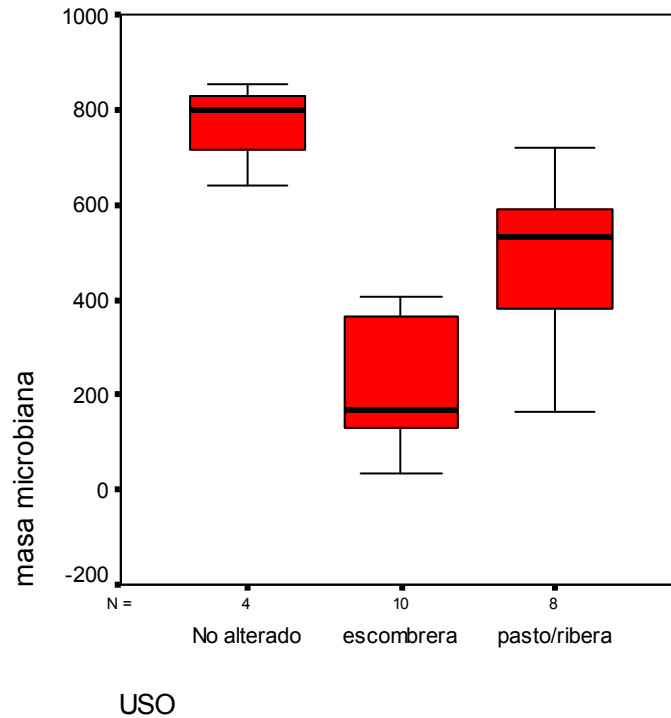


Figura 112.- Diagrama de caja, distribución de carbono de la masa microbiana según el uso del suelo.

Respirometría basal

Los valores de respirometría basal se representan en el gráfico de la Figura 113. Los valores más bajos de respirometría basal se han obtenido en las escombreras, con valores entre $0,19 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en ES(B3) y $6,2 \text{ mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en ES(B6). Este último es un valor alto considerando los resultados de respirometría basal que se observan en las escombreras (Figuras 113 y 115). En tanto este valor es un reflejo de la mineralización de carbono en suelos, la diferencia entre escombreras y suelos no alterados se corresponde con lo esperado y previamente descrito (Gil-Sotres *et al.* 1992). En cuanto a los valores obtenidos en el robledal NA(B2), estarían en el límite inferior de los descritos en ese mismo tipo de bosques (Leirós *et al.* 2000), pero el método de estimación de la respiración es muy diferente del usado en este estudio. Destacan también por su valor elevado los datos de respirometría basal correspondientes al pastizal PAR(B7).

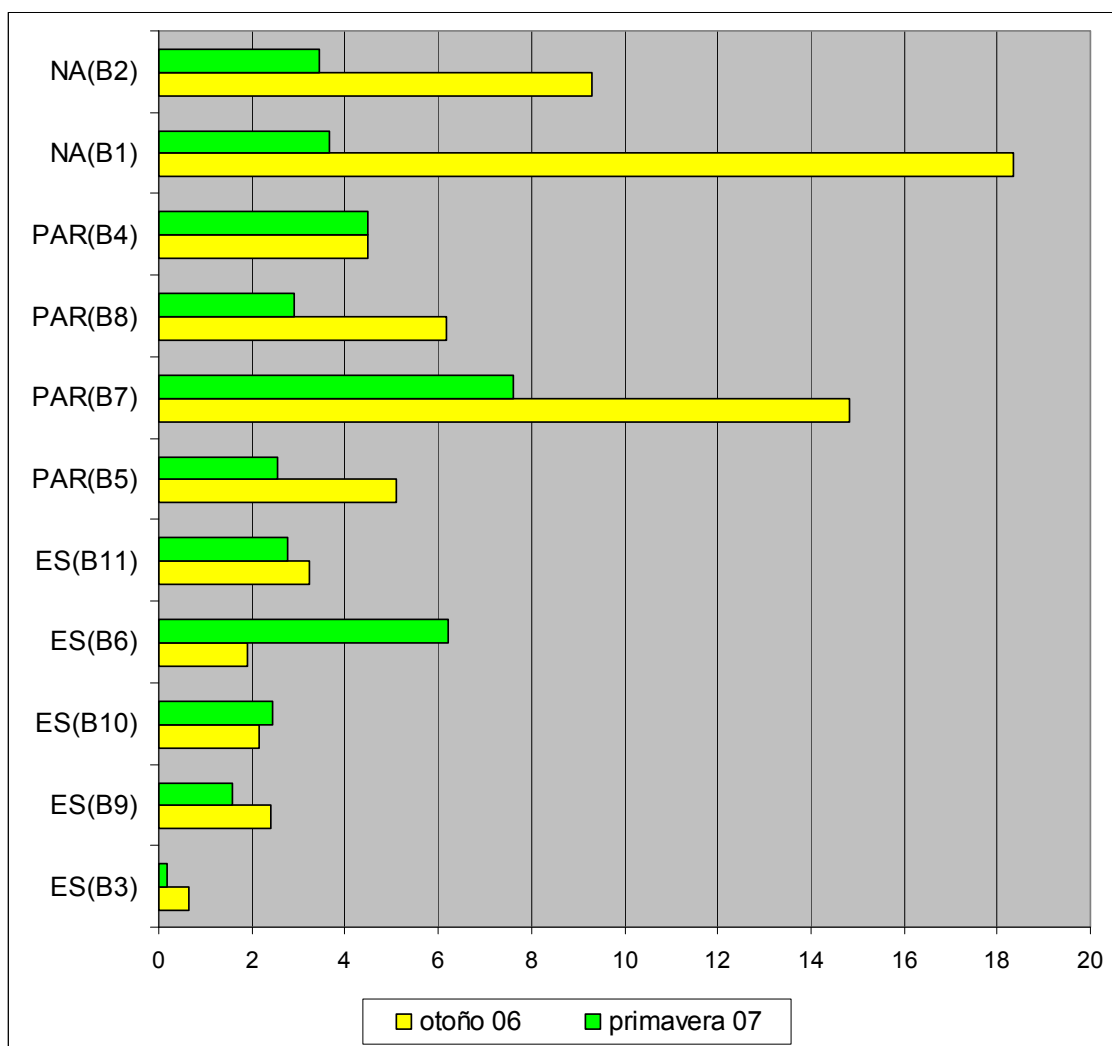


Figura 113.- respirometría basal (mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹).

Variabilidad de la respirometría basal en función de la época de muestreo

La respirometría basal presenta valores que son generalmente, más elevados en las muestras obtenidas en otoño de 2006 (Fig. 114). A pesar de ello, las diferencias no son estadísticamente significativas (ANEXO I).

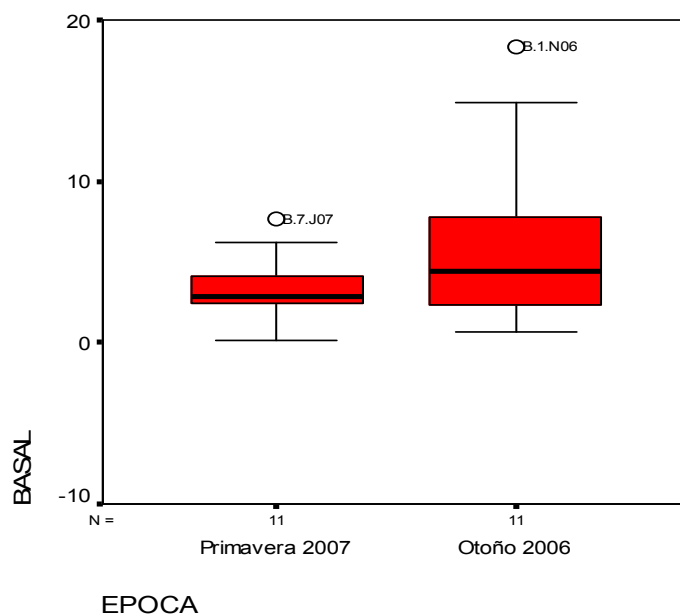


Figura 114.- Diagrama de caja, distribución de respirometría basal según la época de muestreo.

Variabilidad de la respirometría basal según el uso/tipología de suelo

Aunque el rango de valores y la mediana en suelos no alterados son mayores que en escombreras (Fig. 114), no se puede afirmar que existan diferencias estadísticamente significativas para respirometría basal según el uso del suelo (ANEXO I).

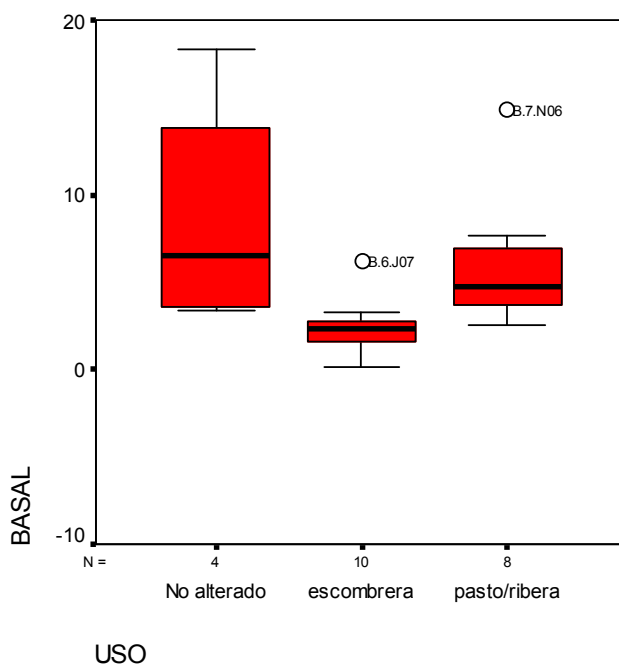


Figura 115.- Diagrama de caja, distribución de respirometría basal según el uso/tipología de suelo.

Cociente metabólico

Los resultados obtenidos se presentan en el gráfico de la Figura 116, muestran dos valores en otoño especialmente altos, uno corresponde a PAR(B7) y el otro punto es NA(B1).

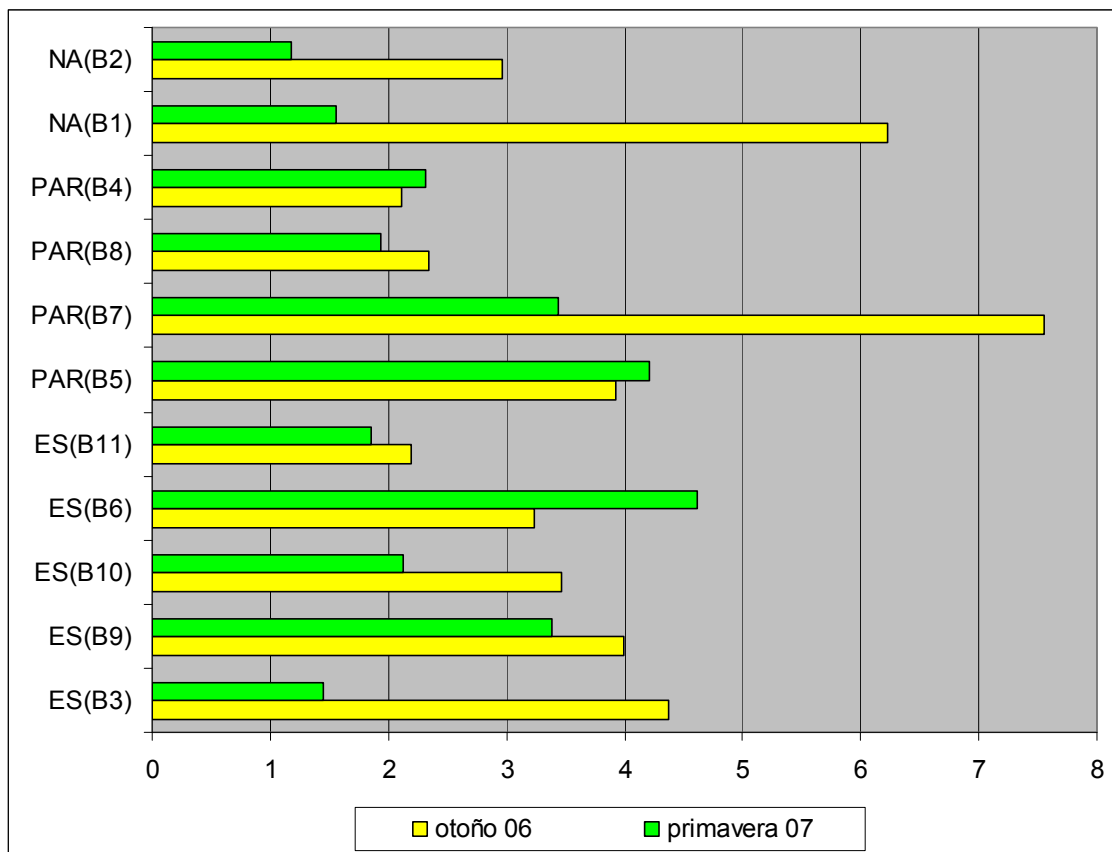


Figura 116.- Cociente metabólico ($\text{mg C-CO}_2 \text{ g C}_{\text{mic}}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Variabilidad del cociente metabólico según la época de muestreo.

Los valores de cociente metabólico de las muestras obtenidas en otoño muestran tendencia a ser más altos que los de las muestras de primavera (Fig. 117). No obstante, estas diferencias no son estadísticamente significativas (ANEXO I).

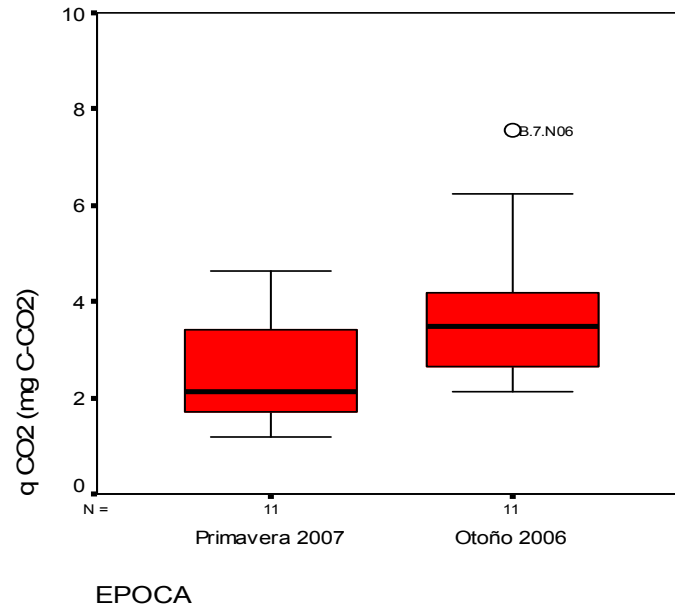


Figura 117.- Diagrama de caja, distribución de cociente metabólico según la época de muestreo.

Variabilidad del cociente metabólico según el uso del suelo

El gráfico de la figura 118 nos permite apreciar una mediana algo mayor en las escombreras, pero un rango de valores muy amplio en los suelos no alterados, pero no hay diferencias estadísticamente significativas en las medias de esta variable para ningún uso (ANEXO I).

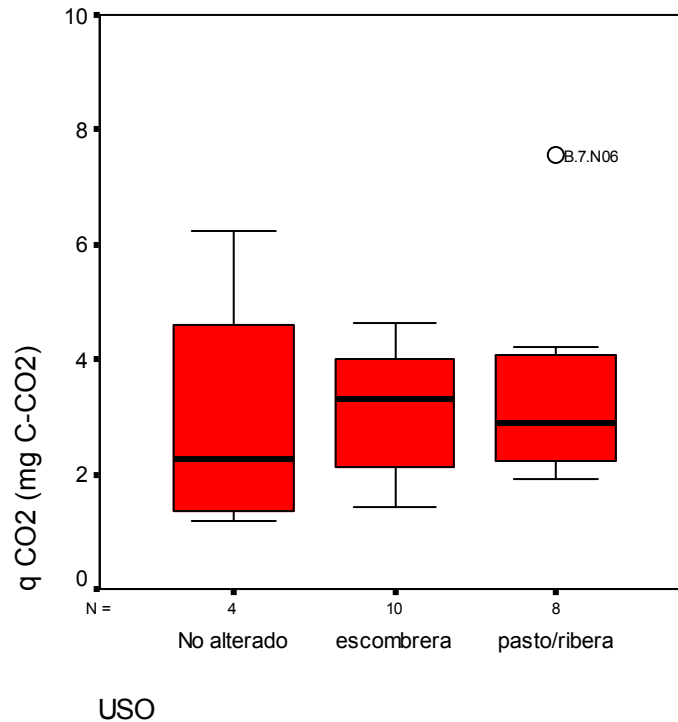


Figura 118.- Diagrama de caja, distribución de cociente metabólico según uso/tipología de suelo.

El **cociente metabólico en PAR(B7)**. En este punto de muestreo se da una situación única entre todas las estudiadas y es su pH que, con un valor cercano a 7,5, es el único de naturaleza básica que se encuentra en las muestras de El Bierzo. Esta situación sólo puede ser achacable a la aportación por escorrentía o lixiviación de materiales provenientes de la pista forestal. Podríamos decir que estamos ante un encalado no dosificado. El valor de cociente metabólico en este punto es el más alto en la campaña de otoño y el tercero más alto en la de primavera, con valores de 7,56 y 3,43 mg C-CO₂ g C_{mic}⁻¹ h⁻¹. En uno de los trabajos más críticos con el uso del cociente metabólico como bioindicador de perturbación (Wardle y Ghani 1995) se cita el encalado como causa de perturbación y se dan valores de $q\text{CO}_2$ para suelos encalados, entre 0,7 y 2,3 mg C-CO₂ g C_{mic}⁻¹ h⁻¹, con resultados estadísticamente iguales o más altos en suelos sin encalar.

En suelos forestales se asocian valores bajos de pH con valores altos de cociente metabólico (Anderson y Domsch 1993). Experimentalmente, también con suelos forestales, la disminución del pH simulando lluvia ácida lleva aparejado un aumento del cociente metabólico, que se recupera cuando se neutraliza el suelo (Wolters y Joergensen 1991).

El encalado de suelos contaminados con metales pesados también produce una disminución del cociente metabólico (Pérez de Mora *et al.* 2005), en suelos agrícolas con pH alcalino, naturales o encalados, se describe un aumento de la producción de CO₂ desde el suelo que puede ir acompañado de unos valores de cociente respiratorio relativamente elevados, desde 1,2 hasta más de 3 (Bertrand *et al.* 2007) lo que sugiere un aporte abiótico de CO₂. Por otro lado y ya estudiando directamente el cociente metabólico, en un suelo agrícola con un gradiente amplio de valores de pH, se ha descrito un aumento del cociente metabólico en los dos extremos de la horquilla de valores de pH (de 3 a 8) (Aciego Pietri y Brrokes 2008), no obstante el aumento del valor de cociente metabólico para valores alcalinos lo achacaron a la producción abiótica de CO₂.

En el caso de PAR(B7) el valor elevado de respirometría basal y de cociente metabólico no es debido a esa producción abiótica de CO₂, ya que los valores de cociente respiratorio registrados son bajos, menores de 0,7, (Figs. 126 y 127). Por otro lado, como se ha explicado previamente en cuanto a la diferencia de valores para respirometría basal y cociente metabólico en función de la época de muestreo, una característica particular en este punto con valores altos de respirometría basal y cociente metabólico, es que van acompañados de valores relativamente bajos de masa microbiana y tasa máxima de respiración, lo que nos indicaría que en este punto hay una situación que está perturbando el sistema edáfico. Adicionalmente, el contenido en materia orgánica en PAR(B7) es el cuarto más bajo encontrado en El Bierzo lo que apoyaría la idea de algún tipo de alteración. El recuento de heterótrofos totales ofrece, en este punto de muestreo, los valores más altos y en el muestreo de otoño, también presenta los valores más altos en el recuento de actinomicetos. Sobre los cambios en la composición de la comunidad microbiana en suelos encalados, la tendencia es a un aumento relativo en bacterias frente a hongos (Aciego Pietri y Brookes 2009) más debido a un crecimiento mayor de bacterias, sin que la posible escasez de nutrientes intervenga en este cambio de estructura de la población (Rousk *et al.* 2010). Los datos que se ofrecen en este trabajo sobre recuento de heterótrofos totales pueden coincidir con este cambio en las poblaciones microbianas del suelo.

Los resultados presentados en este trabajo, sobre este punto de muestreo, parecen consistentes con la idea de que la perturbación del sistema edáfico ha tenido un reflejo en el cociente metabólico, tanto por los propios valores de esa variable como por los resultados obtenidos en otras variables como C_{mic} o tasa máxima de respiración. Hay una diferencia entre el proceso de alcalinización de esta parcela y lo que suceda en suelos que, de forma natural, tengan un pH neutro o alcalino y con aquel proceso en el que se ha producido una alcalinización con dosis calculadas y preestablecidas por prácticas agrícolas o ambientales. En este caso el aumento del pH es debido al carbonato cálcico proveniente de la carretera, que en un plazo de cuatro años ha provocado un aumento del pH en 1,5 unidades. Quizá sea poco tiempo para alcanzar un nuevo equilibrio en las poblaciones microbianas en ese punto de muestreo. El efecto de la variación de pH en la estructura de la comunidad microbiana del suelo se ha descrito (Blagodatskaya y Anderson 1998), en el sentido mencionado anteriormente. Cuando se trata de comparar bacterias y hongos en el suelo se podría asimilar (Dilly 2005) a una comparación entre microorganismos oportunistas (las bacterias con: menor tamaño, masa microbiana y metabolismo más activo), lo que conduce a poca masa microbiana pero muy activa, con microorganismos estrategas de la K , los hongos, con más masa por microorganismo y un metabolismo más lento, lo que conduce a una menor actividad respiratoria por unidad de masa microbiana.

El **cociente metabólico en las escombreras**. Los resultados obtenidos en las escombreras oscilan entre 1,4 y 4,6 mg C-CO₂ g C_{mic}⁻¹ h⁻¹. Sorprende que el valor más bajo corresponda a la escombrera más reciente. En un principio se puede pensar en que los valores tan bajos de C_{mic} y de respirometría basal hagan que el valor de la relación entre ambos sea impredecible. Situaciones asimilables a esta, baja masa microbiana activa (medida a través de ATP) y baja respiración (cinética de mineralización de carbono) se han descrito en escombreras muy recientes (Gil-Sotres *et al.* 1992).

Las hipótesis de aproximar la teoría de Odum (Odum 1969) al subsuelo (Anderson 1994), en lo que puede relacionarse con las escombreras en particular y con el desarrollo de un subsistema edáfico en general, aproximan la respiración y la biomasa del modelo de Odum reemplazando estos términos con respirometría basal y con C_{mic} , indicando que la relación entre ambas variables, el cociente metabólico, debería disminuir con el tiempo (o el estadio de sucesión o desarrollo). En las escombreras se

esperaría que las más recientes tuvieran cocientes metabólicos más altos y que, pasado un tiempo, el valor del cociente metabólico disminuyera (Insam y Haselwander 1989). Los resultados obtenidos en este trabajo son contradictorios con esta hipótesis, no sólo por los resultados en ES(B3), la escombrera más reciente, sino porque en el resto tampoco hay una tendencia que nos indique cual de ellas parece tener un subsistema edáfico más desarrollado.

Otras aproximaciones experimentales para evaluar los cambios en la comunidad microbiana y su actividad en escombreras –en ese caso de 1-11 años de antigüedad- ocasionalmente tampoco han sido fructíferas (Claasens *et al.* 2008), hecho atribuido a los distintos materiales usados en la recuperación de esas escombreras (Claasens *et al.* 2006). Por otro lado en estudios de recuperación de escombreras a más largo plazo, 50 años, si se observan tendencias hacia menores cocientes metabólicos con el tiempo, con valores más bajos si la recuperación del terreno ha conllevado un uso agrícola que si el uso ha sido forestal (Insam y Domsch 1988).

Algunos autores indican que el cociente metabólico es un indicador contradictorio en la predicción del nivel de desarrollo/madurez de un suelo (Wardle y Ghani 1995). Por otro lado se cita que la metodología usada en la estimación de C_{mic} (SIR) y de la respirometría basal debe ser capaz de medir estas variables en tasas horarias (Anderson 2003), si bien esa ha sido la aproximación metodológica empleada en este trabajo, los resultados siguen siendo contradictorios. Quizás la diferencia de edad entre las escombreras muestreadas no sea muy grande, o bien factores diferentes al de la edad, como cubierta vegetal, orientación o pendiente enmascaren las diferencias atribuibles sólo a la edad de la escombrera, pero si comparamos la distribución de valores en las escombreras y en las zonas no alteradas tampoco observamos diferencias (Figuras. 116 y 118), por lo que, con la aproximación utilizada en este trabajo, comparando los valores de esta variable en suelos diferentes de una misma zona, en muestras tomadas en dos campañas, el cociente metabólico no ofrece resultados consistentes en la discriminación de los suelos según su uso/estado o si se quiere decir así, su desarrollo o madurez.

El **cociente metabólico en los otros puntos de muestreo**. Los valores obtenidos en el robledal, 1,18 en primavera y 2,96 mg C-CO₂ g C_{mic}⁻¹ h⁻¹ en otoño pueden ser ligeramente más bajos que la media descrita en bosques similares de Galicia (Leirós *et al.* 2000), cuyos valores consideran consistentes con los aportados por otros autores para ambientes similares (Anderson y Domsch 1993; Anderson 2003). En las zonas de pastos/riberas como PAR(B8) y PAR(B4) los valores están próximos a 2 mg C-CO₂ g C_{mic}⁻¹ h⁻¹, en la parte más baja del rango descrito para pastizales en suelos ácidos, entre 1,9 y 4,4 (Plassart *et al.* 2008).

Tasa máxima de respiración.

Los valores obtenidos de tasa máxima de respiración se representan en el gráfico de la (Fig. 119). Sólo el valor obtenido en la campaña de primavera de 2007 en ES(B3), está por debajo del valor mínimo de tasa máxima de producción de dióxido de carbono, que es $\geq 0,5 \text{ mg CO}_2 \text{ h}^{-1} 100 \text{ g}^{-1} \text{ suelo seco}$ (Dott 1995). Los valores más altos de tasa máxima se obtuvieron en las parcelas no alteradas por la actividad minera NA(B1), NA(B2) y los pastizales PAR(B4), PAR(B7) y PAR(B8), esta última con valores similares a PAR(B5), correspondiendo los valores más bajos a los analizados en las escombreras.

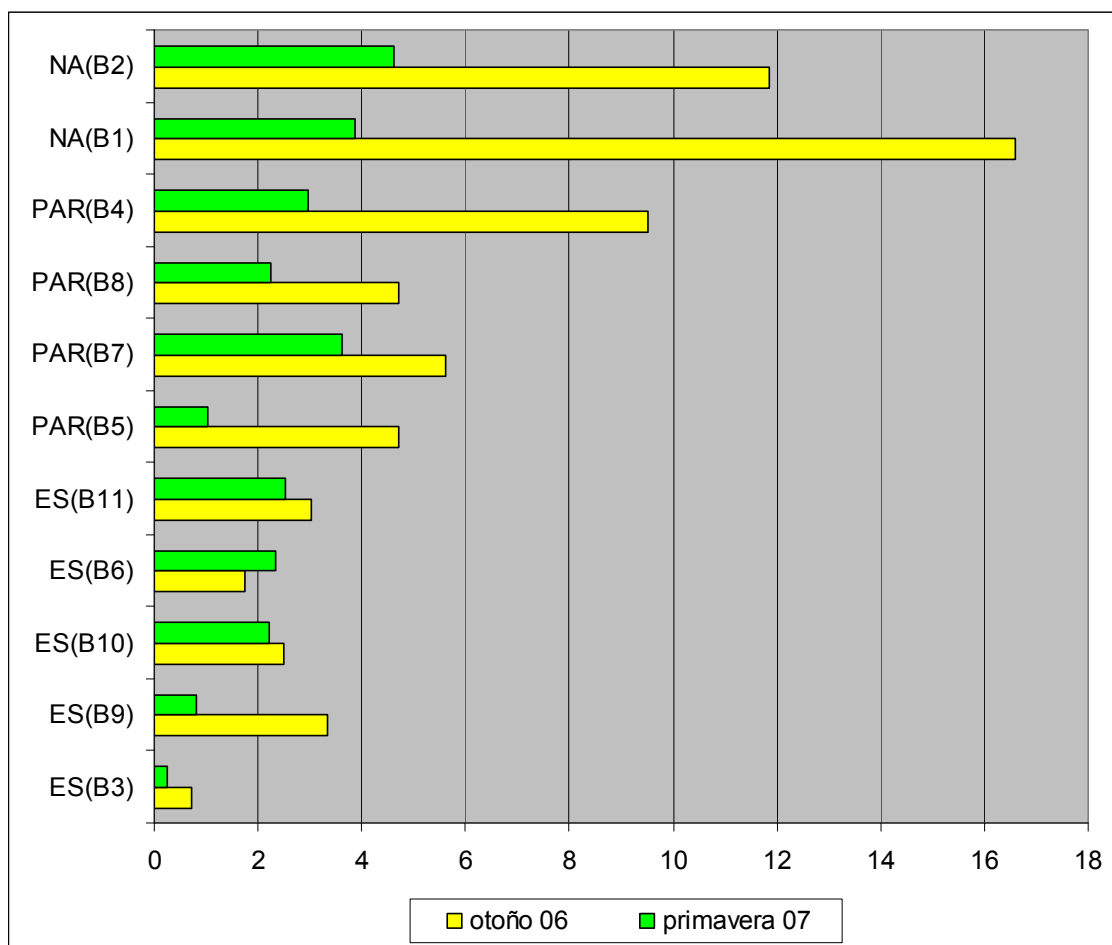


Figura 119.- Tasa máxima de respiración ($\text{mg CO}_2 100 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$).

Variabilidad de los valores de la tasa máxima de respiración según la época de muestreo

Excepto en ES(B6), (Fig. 119), el valor de tasa máxima obtenido en otoño es más alto que el de primavera. En general (Fig. 120) los valores obtenidos en la campaña de otoño de 2006 son más altos que los analizados en la primavera de 2007. Las diferencias en tasa máxima según época del año son estadísticamente significativas (ANEXO I).

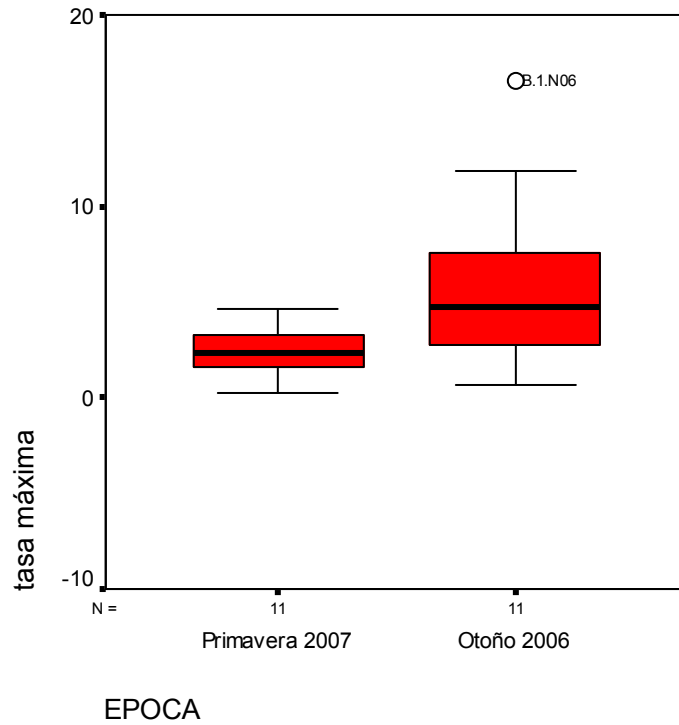


Figura 120.- Diagrama de caja, distribución de tasa máxima de respiración según época de muestreo.

Variabilidad de los valores de la tasa máxima de respiración según el uso/tipología de suelo

Los valores de esta variable para el uso no alterado muestran una tendencia a ser mayores que para los otros dos usos de suelo (Figura 121), aunque no existen diferencias estadísticamente significativas (ANEXO I).

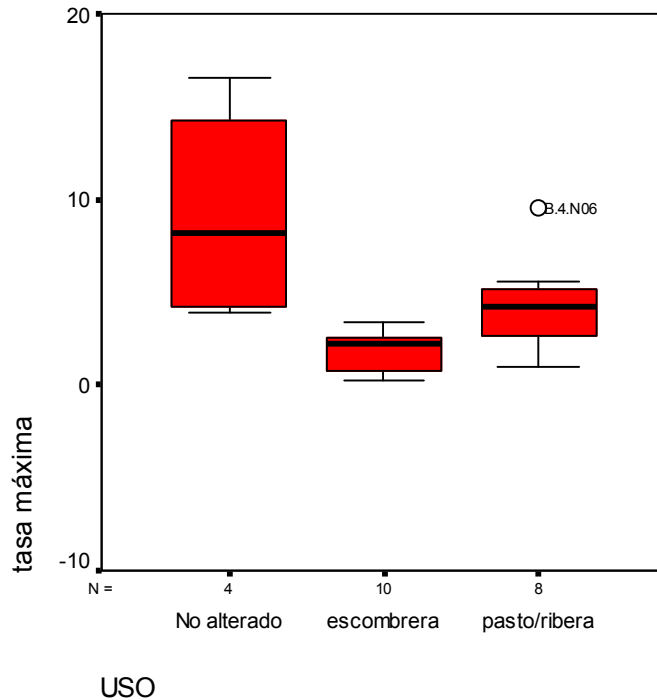


Figura 121.- Diagrama de caja, distribución de tasa máxima de respiración según uso/tipología de suelo.

Relación C_{mic}/C_{org} .

Con suelos agrícolas o forestales esta relación se calcula usando como valor de carbono orgánico el valor del COT, p.ej. (Anderson y Domsch 1989). En el escenario de El Bierzo se ha explicado previamente la aportación del carbono geogénico al carbono orgánico total. Considerar el valor del COT en el cálculo de esta relación implicaría obtener valores bajos que no permitirían analizar adecuadamente la aportación del carbono microbiano al carbono orgánico del suelo, por ello se ha optado por utilizar el valor del CO_{FO} . Esta situación se ha dado en otros trabajos en escombreras de carbón (Insam y Domsch 1988), buscando también soluciones alternativas al uso del valor de carbono orgánico total.

Los resultados de esta relación obtenidos en El Bierzo, entre 0,2 y 2,96, parecen valores bajos cuando los comparamos con los citados para usos con suelos agrícolas, entre 2 y 4 (Anderson y Domsch 1989) o bien como valores generales, entre 1 y 4 (Jenkinson y Ladd 1981). También en uso forestal el rango entre 2 y 4,4 parecen mostrar la situación más común, si bien tanto los valores indicados en uso agrícola como forestal son para suelos con pH neutro (Anderson 2003). En suelos ácidos es razonable encontrar valores

más bajos, ya que parte de la fuente de carbono y energía que podría dedicarse al crecimiento microbiano, se emplea en el mantenimiento del pH intracelular (Anderson 2003). En suelos mediterráneos, pero con pH neutro-básico, se describen valores entre 2 y 8 (García *et al.* 1994). No obstante, comparando los valores de El Bierzo con los de Almadén, con valores entre 0,67 y 5,04 y pH generalmente ácido, también parecen valores más bajos.

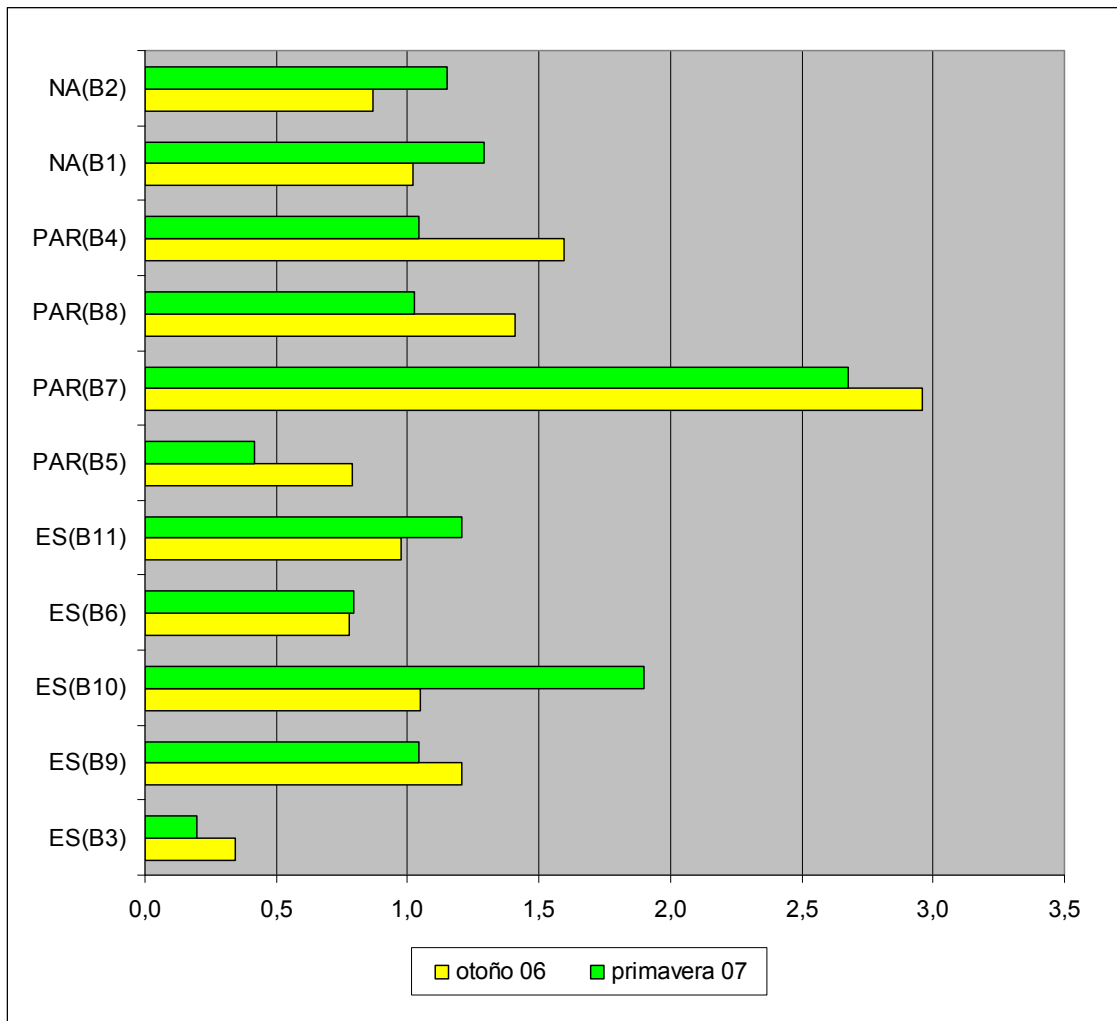


Figura 122.- Relación C_{mic}/CO_{FO} , como porcentaje de C_{mic} en CO_{FO} .

Si se extrapola la teoría del desarrollo de los ecosistemas de Odum (Odum 1969) al sistema formado por la comunidad microbiana de los suelos (Anderson 1994), la tendencia esperable en el valor de la relación sería la de encontrar valores más bajos cuanto menor el estadio de desarrollo y según evolucionara el sistema el valor tendería a aumentar, siguiendo una tendencia opuesta a la del cociente metabólico. Quizá la tendencia que menciona Anderson (Anderson 1994) para la relación C_{mic}/C_{org} deba ser matizada, tal vez en el tiempo donde se sitúe el punto inicial del estadio de desarrollo,

ya que observaciones experimentales en escombreras de carbón indican valores iniciales del 15% al 20% de carbono microbiano en el carbono orgánico tendiendo hacia valores más bajos, del 2% al 5% dependiendo si el uso posterior del suelo fue forestal o agrícola (Insam y Domsch 1988).

De alguna manera, parece razonable que en una superficie prácticamente sin vegetación, como las escombreras jóvenes, el contenido en carbono orgánico que puedan retener sea el debido a la masa microbiana, con lo cual la relación C_{mic}/C_{org} debe tener un valor elevado. Según se desarrolle la vegetación y aporte materia orgánica al suelo, aumentará el carbono orgánico no microbiano, parte de este carbono orgánico será más recalcitrante y su mineralización más lenta con lo cual se acumulará en el suelo con el consiguiente aumento del carbono orgánico y la tendencia a que disminuya la relación C_{mic}/C_{org} . Además, la tasa de renovación (turnover) para el carbono microbiano es más rápida que para la materia orgánica por lo que el carbono microbiano alcanzará un rango de valores “en equilibrio” o “estacionarios” antes que el carbono orgánico tendiendo pues a obtener valores más bajos de la relación con el tiempo en la evolución del sistema edáfico.

En las escombreras de El Bierzo obtenemos unos valores especialmente bajos en ES(B3) y en el resto no se puede establecer con claridad ninguna tendencia. Los valores especialmente bajos de ES(B3) quizá se puedan explicar por lo extremadamente reducidos que son los valores, tanto de masa microbiana como de carbono orgánico oxidable, haciendo que el valor de la relación C_{mic}/C_{org} tenga un sesgo impredecible. La falta de una tendencia clara en las otras escombreras podría ser explicada por el hecho de que la edad de la escombrera no es el único factor que influye en el desarrollo de la vegetación y del suelo en ese sistema y que otros factores, posición, pendiente, porcentaje de cubierta vegetal pueden enmascarar la influencia de la edad. En todo caso, la similitud de los valores encontrados en las escombreras y en los suelos no alterados (Figs. 122 y 124), impide, con los resultados obtenidos, obtener una idea de la tendencia hacia uno u otro valor en función de la situación ambiental de las escombreras.

Los valores de la relación obtenidos en los puntos de muestreo donde no se observa alteración por uso minero, el robledal NA(B2) y el brezal NA(B1), ofrecen un rango de valores entre 0,87 en el robledal en otoño y 1,29 en el brezal en primavera, valores

dentro del rango de los encontrados en bosques ácidos en Galicia, entre 0,77 y 2 (Díaz-Raviña *et al.* 1988; Leirós *et al.* 2000), lo que da cierta consistencia con los resultados obtenidos, a pesar de la falta de tendencia encontrada en las escombreras.

Sobre los valores en los pastizales hay que resaltar que el valor más alto de la relación, corresponde a PAR(B7), con valores de 2,67 y 2,96. En este pastizal encontramos valores muy similares de C_{mic} con otros pastizales, como PAR(B8) Y PAR(B4), pero el contenido en materia orgánica y por tanto en carbono orgánico oxidable y en nitrógeno total es prácticamente la mitad. Se podría entender que hay un elevado consumo de energía en ese pastizal, lo que explicaría un valor bajo de materia orgánica, si lo comparamos con los otros pastizales. Al mantener PAR(B7) unos valores de masa microbiana similares al de los otros pastizales se explicaría el valor alto de C_{mic}/C_{org} . También se han descrito valores más altos de la relación en pastizales con pH neutro o alcalino (Plassar *et al.* 2008), lo que concuerda con la tendencia apuntada en los resultados obtenidos. Los valores de los otros pastizales, entre 1,03 y 1,6 quizá sean algo más bajos que los encontrados en otros trabajos, p.ej. valores de 1,68 o algo mayores (Plassar *et al.* 2008).

Variabilidad de la relación C_{mic}/C_{org} según la época de muestreo.

En el diagrama de la Figura 123 no se observan grandes diferencias en la distribución de valores de la relación C_{mic}/C_{org} . Tampoco estadísticamente existen diferencias significativas (ANEXO I).

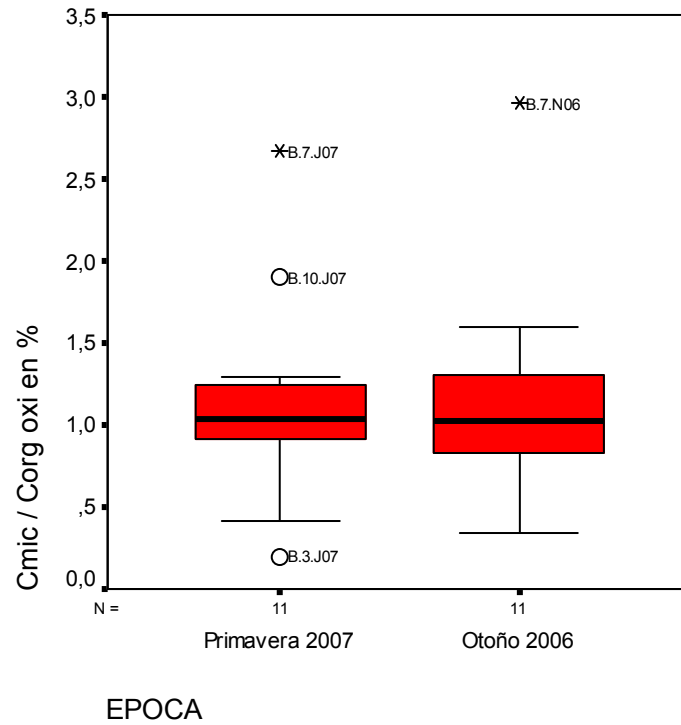


Figura 123.- Diagrama de caja, distribución de la relación C_{mic}/C_{org} según la época de muestreo.

Variabilidad de la relación C_{mic}/C_{org} (oxidable) según el uso del suelo.

No hay diferencias estadísticamente significativas para esta variable según el uso del suelo (ANEXO I). El diagrama de la figura 124 muestra un rango de valores muy amplio en pastos y riberas, pero los valores de la mediana son muy similares entre los diferentes usos.

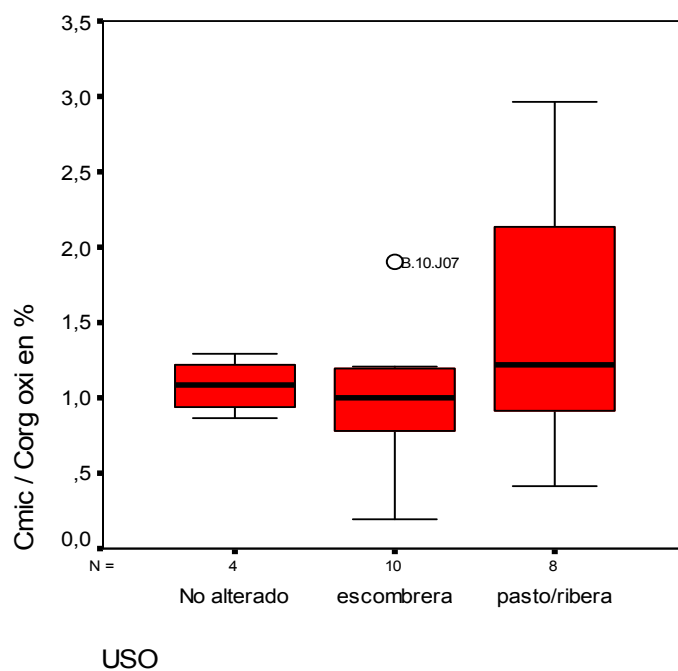


Figura 124.- Diagrama de caja, distribución de la relación C_{mic}/C_{org} según uso/tipología de suelo.

Cociente respiratorio.

El cociente respiratorio es la relación molar entre el oxígeno consumido y el dióxido de carbono producido durante la respiración, los valores que ofrecemos como RQ basal se refieren al cociente respiratorio en las muestras y en los momentos en los que se midió la respirometría basal y cuando se indica RQ glucosa se hace referencia a los valores del cociente respiratorio de las muestras del suelo a las que se ha añadido glucosa para obtener C_{mic} (SIR). Este valor nos puede dar una idea del grado de oxidación de la materia orgánica consumida como fuente de carbono y consecuentemente mineralizada a dióxido de carbono.

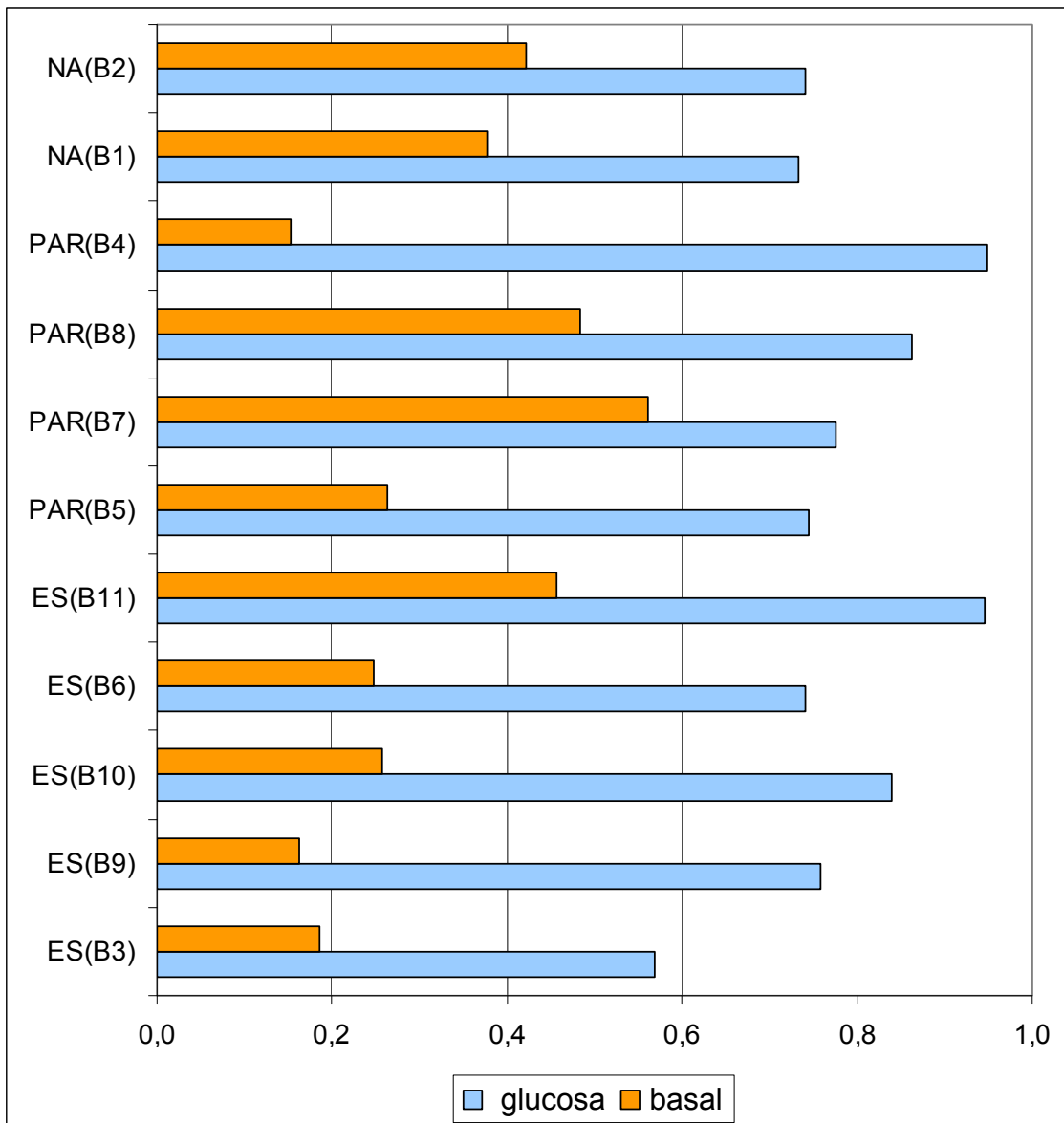


Figura 125.- Cociente respiratorio otoño 2006.

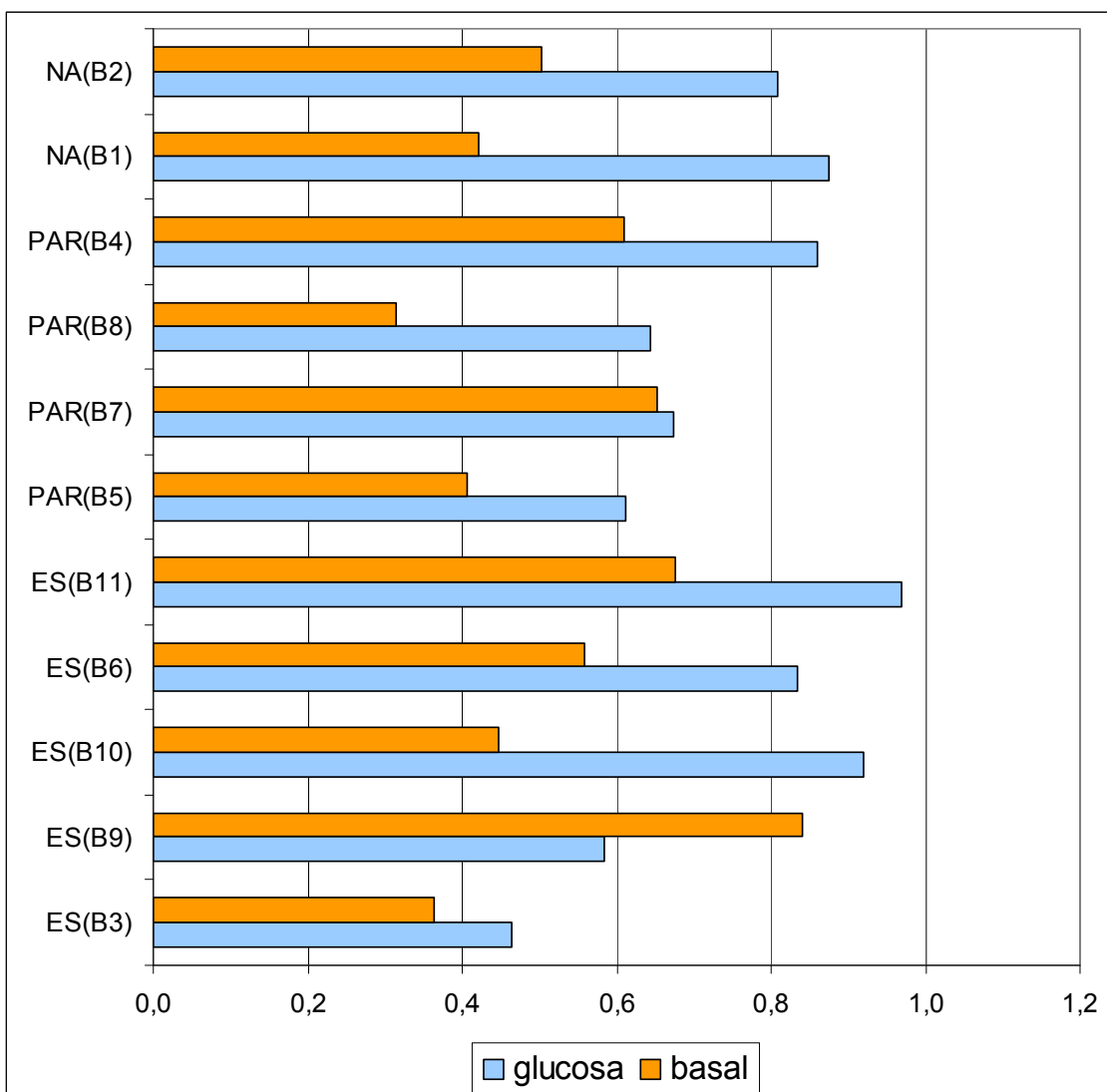


Figura 126.- Cociente respiratorio primavera 2007.

IV.9.- Análisis conjunto de las variables estudiadas.

Análisis de componentes principales.

En este apartado se recogen los resultados del análisis multivariante de componentes principales para las variables más relevantes estudiadas. Como primer resultado se presenta, en la tabla 15 la matriz de componentes rotados.

Tabla 15.- Matriz de componentes rotados. Método de extracción por Análisis de componentes Principales y rotación Varimax con normalización Kaiser.

Variable	Componente				
	1	2	3	4	5
Máxima cap. de agua (WHC)	0,816	0,096	0,148	0,229	0,411
Humedad (en % p.f.)	0,527	0,694	0,058	0,276	-0,016
Densidad aparente	-0,784	-0,228	-0,049	-0,109	0,288
Arena	-0,405	-0,647	0,086	-0,460	-0,025
Limo	0,378	0,676	-0,068	0,326	0,035
Arcilla	0,271	0,135	-0,109	0,740	-0,032
pH H ₂ O	-0,053	0,836	-0,075	0,345	0,193
masa microbiana C _{mic} (SIR)	0,875	0,399	-0,002	0,155	0,004
Respirometría basal	0,604	0,284	-0,041	0,080	0,726
tasa máxima de respiración	0,813	-0,025	-0,049	0,176	0,397
qCO ₂	-0,053	0,068	0,013	-0,001	0,962
Relación C _{mic} / C _{org}	0,146	0,728	-0,523	-0,178	-0,082
Heterótrofos totales	0,300	0,759	0,234	0,356	0,250
BRS	0,073	0,278	-0,141	0,822	0,058
Actinomicetos	0,413	0,554	0,083	0,521	0,260
Relación BHT/ACT	-0,031	0,774	0,201	-0,073	-0,102
CO _{FO}	0,907	0,012	0,345	0,132	-0,070
C _{TOTAL}	0,205	0,086	0,931	-0,102	0,032
C _{INORG}	-0,186	0,777	-0,142	0,115	0,471
COT	0,228	-0,032	0,928	-0,116	-0,039
Relación CO _{FO} /COT	0,532	0,077	-0,789	0,045	-0,068
N _{TOTAL}	0,633	0,055	0,719	-0,001	-0,152
Relación C/N	0,625	-0,032	-0,576	0,151	0,021
Varianza explicada (%)	26,29	22,14	16,50	10,33	9,87
Varianza acumulada	26,29	48,43	64,93	75,26	85,13

Celdas sombreadas en amarillo: correlaciones altas y positivas con el componente

Celdas sombreadas en teja: correlaciones altas y negativas con el componente

En la matriz de componentes rotados se obtienen 5 componentes que en conjunto explican un 85,13% de la varianza.

Tras la rotación, **el componente 1** es el que mayor porcentaje de la varianza viene a explicar, con un 26,29 %. Podremos denominarle como asociado a materia orgánica, ya que presenta valores altos de correlación con variables asociadas con la materia orgánica de los suelos, carbono orgánico fácilmente oxidable y nitrógeno total, entre otras. Las variables masa microbiana y tasa máxima de respiración también ofrecen valores altos de correlación con este componente. Lógicamente, este componente nos remite con los puntos de muestreo de las zonas no alteradas por la minería, ya que en ellas se dan los valores más altos de contenido en materia orgánica, pero también nos indica que está alejado de los valores de las escombreras y que es el contenido en materia orgánica el factor limitante en esas escombreras, tanto en lo que se refiere al aspecto de contenido en nutrientes que supone la materia orgánica, a través de la necromasa, como en lo que supone de estructura del suelo por el crecimiento radicular.

El **componente 2** explica un 22,13% de la varianza y se correlaciona de forma especialmente alta con pH y carbono inorgánico, siendo el tercer índice de correlación más elevado el que corresponde a la relación entre heterótrofos totales y actinomicetos, presenta también índices de correlación altos con la relación C_{mic}/C_{org} y con variables de la clasificación granulométrica –negativo con arena y positivo para limo-, este segundo componente parece claramente influido por los valores de las variables que definen PAR(B7).

El **componente 3** explica un 16,5% de la varianza y debe estar ligado a los valores de las escombreras y de la ribera PAR(B5) que presentaban mucho contenido en carbono orgánico total, y carbono total.

El **componente 4** explica un 10,3% de la varianza y presenta la mayor correlación con bacterias reductoras del sulfato (0,822) y con arcilla (0,740), estas dos variables no tienen un índice de correlación de Pearson especialmente alto ($r = 0,55$) y, por otro lado, el número de bacterias reductoras de sulfato es muy elevado en PAR(B4), un pastizal en la ribera del Rodrigatos donde es factible que se den condiciones para el crecimiento de

este tipo de bacterias, no obstante la otra variable, contenido en arcilla donde es especialmente alto es en las escombreras.

El **componente 5** explica un 9,87% de la varianza y presenta un índice de correlación elevado y positivo con el cociente metabólico (0,962) y con la respirometría basal, en esas variables se obtienen los valores más elevados en las muestras de otoño de las zonas no alteradas y en PAR(B7).

Análisis discriminante

En estadística, el objetivo último del análisis discriminante es encontrar la función o combinación lineal de las variables independientes, denominada función discriminante, que mejor permite diferenciar entre grupos.

En este estudio se trata de evaluar la clasificación de los puntos de muestreo, previamente agrupados según su uso, a partir del conjunto de variables elegidas, evaluando también la capacidad para clasificar, según los usos previamente fijados, que tienen esas variables.

A los puntos de muestreo se les ha asignado un uso o topología, tal como se explicaba en materiales y métodos. Los usos descritos en el escenario de El Bierzo son: NA para aquellos puntos de muestreo no alterados por la actividad minera. PAR en las zonas de pastos y riberas. ES para las escombreras.

La discriminación sobre asignación de puntos de muestreo a usos del suelo en cada parcela se realiza a través de las variables que se han estudiado, uno de los objetivos de este trabajo era analizar la capacidad para discriminar que presentaban en particular dos variables, el cociente metabólico ($q\text{CO}_2$) y la relación $C_{\text{mic}}/C_{\text{org}}$. Además se han elegido aquellas variables que si han presentado una capacidad real de discriminación a largo de este trabajo, el resto de variables elegidas para el análisis discriminante son:

Arcilla

pH

Carbono orgánico oxidable (CO_{FO})

El procedimiento que se ha utilizado es el de inclusión por pasos. Se utiliza por defecto la Lambda de Wilks. Cada variable independiente candidata a ser incluida en el modelo, se evalúa mediante un estadístico F_{cambio} que mide el cambio que se produce en el valor de la lambda de Wilks al incorporar cada una de las variables al modelo. Obteniendo el valor del estadístico por cada variable, se incorpora al modelo la variable a la que le corresponde el mayor valor F_{cambio} –la que produce mayor cambio en la lambda de Wilks-.

Tabla 16.- Estadísticos del análisis discriminante en los dos primeros pasos.

Paso	VARIABLES	Tolerancia	F para eliminar	Lambda de Wilks
1	CO _{FO}	1,000	19,137	
2	CO _{FO}	0,964	18,999	0,557
	pH en H ₂ O	0,964	7,661	0,332

Las variables más adecuadas para desarrollar la función discriminante son las indicadas en el paso 2 de la Tabla 16: CO_{FO}; pH en H₂O.

Los coeficientes estandarizados (Tabla 17) permiten valorar la contribución neta de cada variable seleccionada a la función discriminante. En este análisis se puede apreciar que, en la función 1, a mayor valor CO_{FO} la puntuación será más elevada, mientras que para la función 2 la puntuación de pH es muy alta y positiva.

Tabla 17.- Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes canónicas.

Variable	Función	
	1	2
pH en H ₂ O	0,322	0,966
CO _{FO}	1,010	-0,133

La relación entre las funciones y los grupos se presenta en la Tabla 18 con las Funciones en los centroides de los grupos.

Tabla 18.- Funciones en los centroides de los grupos.

Uso	Función	
	1	2
No Alterado (NA)	2,439	-0,929
Escombrera (ES)	-1,266	-0,474
Pasto/Ribera (PAR)	0,363	1,057

La función 1, asociada a la variable CO_{FO} , ofrece puntuaciones positivas y altas en zonas no alteradas, puntuaciones altas y negativas en las escombreras y puntuación media pero positiva en pastos y riberas. Por otro lado la función 2 asociada a pH ofrece una función muy alta asociada al centroide del grupo NA, donde precisamente los valores de pH son más bajos. Valor negativo también, pero medio en las escombreras y alto y positivo para PAR, sin duda por la influencia de PAR(B7).

El resultado de la clasificación se presenta en la Tabla 19.

Tabla 19.- Resultados de la clasificación.

USO	Grupo de pertenencia pronosticado			Total
	Afectación metalúrgica	Agricultura	Bosque Mediterráneo	
En número de casos				
No alterado por minería	4	0	0	4
Escombrera	0	8	2	10
Pasto/Ribera	0	1	7	4
En porcentaje				
No alterado por minería	100	0	0	100
Escombrera	0	80	20	100
Pasto/Ribera	20	12,5	87,5	100

Los resultados de la clasificación ofrecen un 86,4% de asignación correcta a los grupos originales, el 100% para no alterados, en cuanto a las escombreras el 80% esta correctamente clasificado como escombrera pero el 20% no. Esto es debido a que el método incluye ES(B11) -la escombrera que ofrece valores más altos de C_{mic} y de materia orgánica- en el grupo de pasto/ribera. El grupo de pastos y riberas ofrece un porcentaje de clasificación correcta del 87,5%, mientras que hay un 12,5% que clasifica como escombreras y que corresponde a un punto de muestreo PAR(B5) en la muestra de primavera. Este punto de muestreo aunque está en la orilla del Rodrigatos presenta valores comunes con los de algunas escombreras por su contenido en carbono total, aportado básicamente por el material de las escombreras que lo flanquean y el de los materiales depositados en las estructuras mineras aguas arriba del Rodrigatos y arrastrados por el río.

Análisis cluster

El análisis clúster, o de conglomerados, se ha realizado con todas las variables. El resultado gráfico del análisis se presenta en la Figura 127.

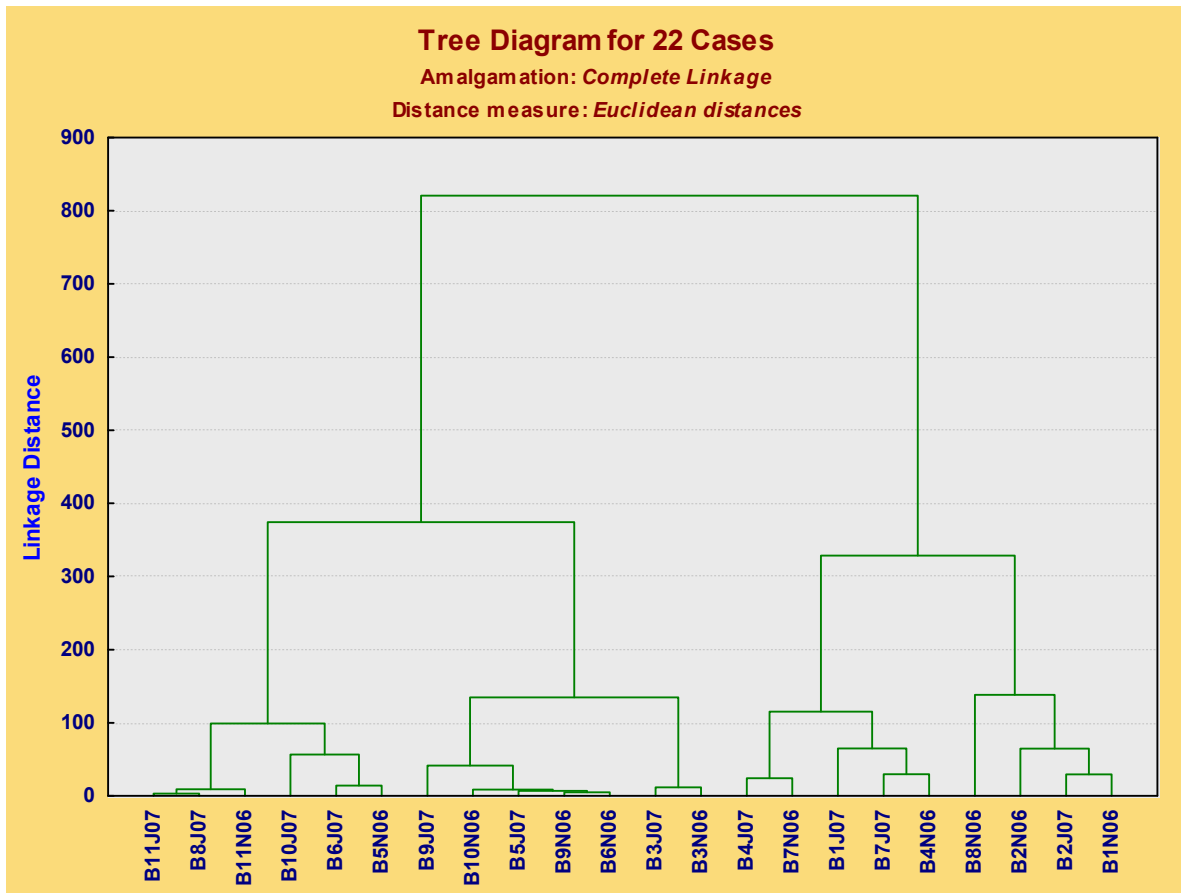


Figura 127. Dendrograma del análisis clúster.

Hay una primera división grande en dos agrupaciones, que separa con claridad todas las muestras de zonas no alteradas por la minería y casi todas las correspondientes a los pastos, PAR(B4), PAR(B7) y PAR(B8). En el otro gran conglomerado se agrupan todas las escombreras y las muestras correspondientes a PAR(B5). También se incluye en el extremo de este grupo la muestra de primavera de PAR(B8), flanqueada por las muestras de ES(B11), que es la escombrera que mayor grado de revegetación presentaba. De alguna manera esta segunda gran agrupación parece mostrar un cierto gradiente de revegetación, en lo que se refiere a las escombreras ya que además del extremo mencionado, en el otro extremo del grupo se encuentran las muestras de ES(B3), precisamente la escombrera con menor grado de revegetación.

IV.10.- Discusión general. El Bierzo.

El Primer objetivo del trabajo consiste en identificar las posibles causas de perturbación del sistema edáfico producidas por las actividades mineras y metalúrgicas.

A lo largo del trabajo se ha descrito como las escombreras -tecnosoles según la clasificación FAO- presentan unas características definidas en cuanto a las variables físicas y físico-químicas, esto es altos contenidos en arena pero densidad aparente elevada, baja capacidad de retención de agua, estas variables asociadas a los contenidos bajos en carbono orgánico oxidable y, por extensión, debidos al bajo contenido en materia orgánica es estos tecnosoles.

No sólo las escombreras están afectadas por la actividad minera; el material de arrastre proveniente de las escombreras y de depósitos de carbón influye claramente en las características de las muestras tomadas en la ribera del Río Rodrigatos, concretamente en el punto de muestreo PAR(B5).

Indirectamente relacionado con la actividad minera, se puede citar la situación en cuanto al valor de pH en PAR(B7), también en la ribera del Río Rodrigatos, pero en la parte más baja de la zona de muestreo, es el único punto de muestreo donde el pH analizado es básico, lo que es debido al material arrastrado por la piedra caliza utilizada

para el acondicionamiento de la pista forestal que habilita el tránsito de los camiones de transporte del carbón.

El segundo objetivo es determinar si la afectación de un terreno por prácticas mineras o metalúrgicas tiene efecto sobre la actividad microbiana

Se ha discutido y demostrado a lo largo del texto cómo hay una relación entre el grado de recuperación de las escombreras, o en general, de afectación de los terrenos con la masa microbiana y la tasa máxima de respiración.

El tercer objetivo consiste en establecer el grado de afectación de la actividad microbiana por otros usos del suelo

Una cuestión que se plantea en los objetivos es hasta qué punto la actividad microbiana se ve afectada por otros usos del suelo. En El Bierzo se han analizado dos zonas no afectadas por la minería, pero sin que se les pueda asignar un uso, esto es el brezal y el robledal. Inicialmente asignados como no afectados por la minería tenemos una serie de zonas de estudio clasificadas como pastos y riberas, el pasto que está en situación superior PAR(B4), se ha demostrado en otros trabajos (Mejuto Mendieta 2011) que está contaminado con metales pesados provenientes de las explotaciones mineras que lo rodean. El siguiente punto de muestreo es otra ribera PAR(B5) que presenta características típicas de los terrenos afectados por la minería, siendo incluso clasificada en el análisis discriminante como del grupo de las escombreras, finalmente sólo quedarían PAR(B7) y PAR(B8), como pastizales, pero sobre PAR(B7) se ha discutido su afectación por el material con el que se construyó la pista forestal, por lo que no se puede afirmar que su posible afectación sobre la actividad microbiana sea debido al uso ganadero de la parcela, con lo que sólo tendríamos como terreno con uso –ganadero- la parcela PAR(B8), por lo que este objetivo en el Bierzo queda un tanto fuera de lugar.

El cuarto objetivo consiste en discriminar hasta qué punto estas variables son de aplicación en nuestro estudio para establecer si hay o no y en qué grado, una alteración de la actividad microbiana en los suelos.

Hasta qué punto las variables $q\text{CO}_2$ y $C_{\text{mic}}/C_{\text{org}}$ son de aplicación en nuestro estudio para establecer si hay o no y en qué grado una alteración de la actividad microbiana de los suelos. Se ha observado que en el caso particular de nuestro estudio en El Bierzo en cuanto a la posible aproximación de estas variables en los términos descritos por Odum

y defendidos por Anderson, estas variables no se muestran de utilidad a la hora de asignar a los puntos de muestreo, especialmente a las escombreras, un nivel de restauración o de desarrollo del subsistema edáfico. Por otro lado, la tasa máxima, en cuanto a los niveles de referencia establecidos por Dott no parece de utilidad, pero sí en cuanto a la información sobre el estado del subsistema edáfico, ofreciendo una posibilidad de clasificación de los puntos de muestreo según el nivel de afectación por la actividad minera, en el mismo sentido y con las mismas características que nos informa la variable masa microbiana.

El quinto objetivo es explicar cuáles son los factores subyacentes que condicionan las variables de actividad microbiológica.

Sobre los factores subyacentes para la obtención de estos valores en las variables estudiadas, son el contenido en materia orgánica y el pH, al igual que en Almadén, los que condicionan los resultados obtenidos en las variables de actividad microbiológica.

V.- CONCLUSIONES.

El escenario de Almadén:

- La concentración de mercurio en los suelos de Almadén presenta valores de fondo muy elevados. La actividad minera y metalúrgica ha contribuido a un aumento de esa concentración en determinados emplazamientos. La metalurgia ha provocado, además, concentraciones de metales pesados como Pb, Zn y Ni superiores a los límites establecidos para suelos de uso agrícola.
- Las variables de actividad microbiana se muestran, de forma general, sensibles a la perturbación causada por las actividades mineras y metalúrgicas cuando estas se materializan como aumento de la concentración de Pb y Zn, aunque no es tan evidente para el Ni. No se ha encontrado relación entre la concentración de mercurio y la actividad microbiana.
- Las variables de actividad microbiana presentan valores que muestran sensibilidad a los otros usos del suelo considerados: agrícola, dehesa de pasto y bosque mediterráneo.
- Las variables utilizadas se muestran relevantes para discriminar entre otros usos del suelo, como agrícola o dehesa de pasto y las perturbaciones que pueden asociarse a dichos usos, excepto en el caso de la contaminación del suelo por mercurio.

El escenario de El Bierzo:

- La actividad minera ha generado escombreras en las que el suelo ha sido sepultado por material estéril. Al margen del grado de recuperación de estas escombreras, la perturbación se aprecia a través de la modificación de las características físicas, físico-químicas y químicas en esos tecnosoles, lo que

dificulta el desarrollo radicular y el establecimiento de un sistema edáfico autosustentable.

- La actividad minera también ha modificado los suelos en zonas de ribera del Río Rodrigatos (PAR(B5)), siendo más parecidas sus características a las de las escombreras que a la de los pastos y riberas que no han sido alteradas por la minería..
- Las perturbaciones producidas por la actividad minera tienen su correspondencia en los valores de las variables microbiológicas no relacionales, siendo la masa microbiana y la tasa máxima de respiración los indicadores más claros de estas perturbaciones..
- Los valores de cociente metabólico obtenidos en las escombreras no permiten establecer una relación directa sobre el estado ambiental de las mismas. Incluso se obtienen resultados contradictorios, ya que no se aprecian diferencias significativas con zonas no afectadas por la minería.
- La presencia de carbono geogénico en algunas muestras, puede alterar los resultados analíticos de las variables significativas para caracterizar la situación ambiental. En concreto, puede condicionar interpretación de la relación C_{mic}/C_{org} .
- Como efecto derivado de la actividad minera en la zona podemos citar efectos no considerados de antemano. Tal es el caso la construcción de una pista, para el transporte del carbón extraído, que discurre junto al Río Rodrigatos a lo largo de varios kilómetros. La zanja caliza en su construcción ha paliado la acidez inducida por la acción antrópica en el río, pero también ha provocado un cambio sustancial en la estructura de la comunidad microbiana que se evidencia a partir del aumento del número de bacterias heterótrofas y del cociente metabólico.

Conclusiones generales. Factores subyacentes que condicionan la actividad microbiológica:

A lo largo de este trabajo se han descrito las características de los suelos en dos escenarios muy diferentes en aspectos tales como clima, altitud, orografía y también en aspectos relacionados con los usos del suelo y con las perturbaciones que la propia actividad minera y/o metalúrgica ha provocado en esos suelos. No obstante los elementos más relevantes para explicar los valores obtenidos en las variables microbiológicas estudiadas en ambos escenarios mineros son los mismos: en primer lugar el contenido en materia orgánica de los suelos y en segundo lugar, el pH.

Las propiedades que la materia orgánica confiere a los suelos son determinantes para el desarrollo de la actividad biológica de los mismos, independientemente del tipo o nivel de perturbación que sufra el suelo. Esto es aplicable a los dos escenarios estudiados, aunque lógicamente en El Bierzo los elementos que necesitan las escombreras para su regeneración son precisamente aquellos que están ligados a la materia orgánica del suelo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aciego Pietri, J. C. y Brookes, P. C. (2008).** Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 1856-1861.
- Aciego Pietri, J. C. y Brookes, P. C. (2009).** Substrate inputs and pH as factors controlling microbial biomass, activity and community structure in an arable soil. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1396-1405.
- AENOR (1993).** Norma UNE 103:200: Determinación del contenido de carbonatos en los suelos. UNE 103:200 1-6.
- AENOR (1995).** Norma UNE 103:102: Análisis granulométrico de suelos finos por sedimentación. Método del densímetro. UNE 103:200 1-15.
- Alberruche del Campo, M. E. (2010).** Evolución de la minería del carbón en la cuenca minera de El Bierzo. En: Plan Director para la Restauración Edafopaisajística y Recuperación Ambiental de los espacios degradados por la minería del carbón en la comarca de El Bierzo. Coordinadores: A. García Álvarez y F. Cantó Portillo, CIEMAT/CIUDEN, Ponferrada (Leon, España): pp 223-227.
- Alexander, M. (1980).** Introducción a la microbiología del suelo. AGT Editor, S.A., México. pp 491.
- Álvarez Martín, J. B., Monseur Lespagnard, J., Gutiérrez Maroto, A. y Guijarro Galiano, J. (1988).** Distribución Geoquímica de elementos traza en los sulfuros pirita y cinabrio y en las intercalaciones pizarrosas de la Capa de San Nicolás. Yacimiento de Almadén (Ciudad Real). *Estudios Geol.* 44, 181-187.
- Anderson, J. P. E. (1982).** Soil respiration. En: Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. USA. pp 831-871.
- Anderson, J. P. E. y Domsch, K. H. (1978).** A Physiological Method for the Quantitative Measurement of Microbial Biomass in Soils. *Soil Biology and Biochemistry* 10, 215-221.
- Anderson, T.-H. (1994).** Physiological analysis of microbial communities in soil: applications and limitations. En: Beyond the Biomass. Compositional and Functional Analysis of Soil Microbial Communities. Eds K. Ritz, J. Dighton y K. E. Giller. John Wiley & Sons, Chichester. U.K. 67-76
- Anderson, T.-H. (2003).** Microbial eco-physiological indicators to asses soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 98, 285-293.
- Anderson, T.-H. y Domsch, K. H. (1986).** Carbon assimilation and microbial activity in soil. *Zeitschrift für Pflanzenernaehrung und Bodenkunde* 149, 457-468.
- Anderson, T.-H. y Domsch, K. H. (1989).** Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 471-479.

- Anderson, T.-H. y Domsch, K. H. (1990).** Application of Eco-physiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 251-255.
- Anderson, T.-H. y Domsch, K. H. (1993).** The Metabolic Quotient for CO_2 (qCO_2) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 25, 393-395.
- Anderson, T.-H. y Domsch, K. H. (2010).** Soil microbial biomass: The eco-physiological approach. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 2039-2043.
- Anderson, T.-H. y Joergensen, R. G. (1997).** Relationship between SIR and FE estimates of microbial biomass C in deciduous forest soils at different pH. *Soil Biology and Biochemistry* 29, 1033-1042.
- Arranz González, J. C. (2004).** Propiedades, Clasificación y Evaluación de Suelos Mineros. Implicaciones sobre la ordenación y Gestión de Terrenos Alterados por la Minería. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Madrid. pp 457.
- Atlas, R. M. (1993).** Handbook of Microbiological Media. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida 33431. (USA). pp 1079.
- BOCM (2006).** Orden 2770/2006, de 11 de agosto, del Consejero de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, por la que se procede al establecimiento de niveles genéricos de referencia de metales pesados y otros elementos traza en suelos contaminados de la Comunidad de Madrid. BOCM nº 204:29-30.
- BOE (1973).** Ley 22/1973, de 21 de julio. Ley de Minas. BOE nº 176 de 24 de julio 15056-15071.
- BOE (1977).** Ley 6/1977, de 4 de enero, de fomento de la minería. BOE nº 7 de 8 de enero 364 -370.
- BOE (1978).** Real Decreto 2857/1978, de 25 de agosto. Reglamento General para el Régimen de la Minería. BOE nº 295:27847-27856 y BOE nº 296: 27918-27940.
- BOE (1982).** Real Decreto 2994/1982, de 15 de octubre. Restauración de espacios naturales afectados por actividades extractivas. BOE nº 274: 31246-31247.
- BOE (1984a).** Real Decreto 1116/1984, de 9 de mayo, sobre restauración del espacio natural afectado por las explotaciones de carbón a cielo abierto y el aprovechamiento racional de estos recursos energéticos. BOE nº 141:17194-147195.
- BOE (1984b).** Orden del Ministería de Industria y Energía de 13 de junio de 1984 sobre normas para la elaboración de los planes de explotación y restauración del espacio natural afectado por las explotaciones de carbón a cielo abierto y el aprovechamiento racional de estos recursos energéticos. BOE 145:17433-17437.

- BOE (1990).** Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario. BOE nº 262:32339-32340.
- BOE (1998).** Ley 10/1998, de 21 de abril. Ley de Residuos. BOE 96:13372-13384.
- BOE (2009).** Real Decreto. 975/2009, de 12 de junio, sobre gestión de los residuos de las industrias extractivas y de protección y rehabilitación del espacio afectado por actividades mineras. BOE nº 4143:49948-49993.
- Bååth, E. (1989).** Effects of Heavy Metals in Soil on Microbial Processes and Populations (A Review). *Water, Air, and Soil Pollution* 47, 335-379.
- Bååth, E, Amebrant, K. y Nordgren, A. (1991).** Microbial Biomass and ATP in Smelter-Polluted Forest Humus. *Bulletin. Environmental. Contamination Toxicology* 47, 278-282.
- Barajas-Aceves, M. (2005).** Comparison of different microbial biomass and activity measurement methods in metal-contaminated soils. *Bioresource Technology* 96, 1405-1414.
- Barajas-Aceves, M. Grace, C. Ansorena, J. Dendooven, L. y Brookes, P. C. (1999) .** Soil microbial biomass and organic C in a gradient of zinc concentrations in soils around a mine spoil tip. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 867-876.
- Barkay, T., Miller, S. M. y Summers, A. O. (2003).** Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews* 27, 355-384.
- Bernaus Darbra, A. (2006).** Application of X-ray Synchrotron Based Techniques to the Study of the Speciation, Sorption and Bioavailability of Hg in Environmental and Biological Systems. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. pp 151.
- Berryman, C., Bower, R. P., Chasrtres, C. J., Davis, H. B., Davison, R. A., Eavis, B. W., Goldsmith, P. F., Landon, J. R., Lavelle, A. M., Mellors, D. R., Murdoch, G., Searl, P. L., Suttie, J. S. O., Varley, J. A., West, A. J. y Yates, R. A. (1991).** Booker Tropical Soil Manual: a handbook for soil survey and agricultural land evaluation in the tropics and subtropics. Booker Agriculture International Ltd., London. pp 532.
- Bertrand, I. Delfosse, O. y Mary, B. (2007).** Carbon and nitrogen mineralization in acidic, limed and calcareous agricultural soils: Apparent and actual effects. *Soil Biology and Biochemistry* 39, 276-288.
- Berzas Nevado, J. J., García Bermejo, L. F. y Rodríguez Martín-Doimeadios, R. C. (2003).** Distribution of mercury in the aquatic environment at Almadén, Spain. *Environmental Pollution* 122, 261-271.

- Blagodatskaya, E. y Anderson, T.-H. (1998).** Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and $q\text{CO}_2$ of microbial communities in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1269-1274.
- Blanco Farga, A. M., Gallardo Millán, J. L. y García Bueno, C. (1997).** La zona minera del "Quinto del Hierro" (Almadén): Un posible atentado contra el patrimonio geológico minero. En Actas de la Primera Sesión Científica sobre Patrimonio Minero Metalúrgica. Coordinadores Plaza, L y Fernández Barba, R. Almadén. Ciudad Real. España pp 233-246.
- Böhme, L., Langer, U. y Böhme, F. (2005).** Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 109, 141-152.
- Brookes, P. C. (1995).** The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology and Fertility of Soils* 19, 269-279.
- Brookes, P. C. y McGrath, S. P. (1984).** Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass. *Journal of Soil Science* 35, 341-346.
- Buil, B., Gómez, P., Garralón, A., Turrero, M. J., Durán, J. M., Sánchez, L. y de la Cruz, B. (2007).** Processes controlling pollution in a stream affected by mine drainages (Spain). Eds. Bullen, Th. D y Wang, Y. En Proceedings of the 12th International Symposium on Water-Rock Interaction. Kunming, China, 31 July - 5 August 2007. London, Taylor & Francis Group. pp 1215-1218
- Cantó Portillo, F. y García Álvarez, A. (2010).** Marco legal y normativa aplicable a la restauración. En: Plan Director para la Restauración Edafopaisajística y recuperación Ambiental de los Espacios Degradados por la Minería del Carbón en la Comarca de El Bierzo. Coordinadores: A. García Álvarez y F. Cantó Portillo. CIEMAT/CIUDEN, Ponferrada (León, España). pp 141-156.
- Claasens, S. Jansen van Rensburg, P. J. Maboeta, M. S. y van Rensburg, L. (2008).** Soil Microbial Community Function and Structure in a Post-mining Chronosequence. *Water, Air, and Soil Pollution* 194, 315-329.
- Claasens, S. Van Rensburg, P. J. J. y van Rensburg, L. (2006).** Soil Microbial Community Structure of Coal Mine Discard under Rehabilitation. *Water, Air, and Soil Pollution* 174, 355-366.
- Conant, R. T. Dalla-Betta, P. Klopatek, C. C. y Kopláček, J. M. (2004).** Controls on soil respiration in semiarid soils. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 945-951.
- Conde Bueno, P. Bellido, E. Martín Rubí, J. A. y Jiménez Ballesta, R. (2009).** Concentration and spatial variability of mercury and other heavy metals in surface soil samples of periurban waste mine tailing along a transect in the Almadén mining district (Spain). *Environmental Geology* 56, 815-824.
- Dhalin, S. Witter, E. Martenson, A. Turner, A. y Bååth, E. (2010).** Where's the limit? Changes in the microbiological properties of agricultural soils at low levels of metal contamination. *Soil Biology and Biochemistry* 29, 1405-1415.

- Díaz, F. J. Basanta, R. Rodríguez, V. Escolano, O. Díaz -Raviña, M. y García Frutos, F. J. (2005).** Microbial Biomass Estimation in Semiarid Soils: Influence of Moisture Content. In Sustainable Use y Management of Soils -Arid and Semiarid Regions-, Eds A. Faz Cano, R. Ortiz y A. R. Mermut. Catena Verlag GMBH, Reiskirchen. (Germany). Vol. 36, 63-74.
- Díaz Puente, F. J. Escolano, O y García Frutos, F.J. (2002a).** Procedimiento para la determinación de la máxima capacidad de retención de agua en un suelo por el método del cilindro. Procedimientos Específicos CIEMAT PE-CF-TS-17. Madrid. pp 6.
- Díaz Puente, F. J. Escolano, O. García Frutos, F. J. y Rodríguez Gallego, V. (2002b).** Procedimiento técnico para la realización de medidas en el respirómetro modelo MICRO-OXYMAX del Proyecto de Tratamiento de Suelos Contaminados. Procedimiento CIEMAT: PT-CF-04. Madrid. pp 9.
- Díaz-Raviña, M. Acea, M. J. y Carballas, T. (1993).** Seasonal fluctuations in microbial populations and available nutrients in forest soils. *Biology and Fertility of Soils* 16, 205-210.
- Díaz-Raviña, M. Acea, M. J. y Carballas, T. (1995).** Seasonal changes in microbial biomass and nutrient flush in forest soils. *Biology and Fertility of Soils* 19, 220-226.
- Díaz-Raviña, M. y Bååth, E. (1996)** . Development of Metal Tolerance in Soil Bacterial Communities Exposed to Experimentally Increased Metal Levels. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 2970-2977.
- Díaz-Raviña, M. Carballas, T. y Acea, M. J. (1988).** Microbial biomass and metabolic activity in four acid soils. *Soil Biology and Biochemistry* 20, 817-823.
- Dilly, O. (2001).** Microbial respiratory quotient during basal metabolism and after glucose amendment in soils and litter. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 117-127.
- Dilly, O. (2005).** Microbial Energetics in Soils. En: Microorganisms in soils: Roles in Genesis and Functions. Eds F. Buscot y A. Varma. Springer, Berlin. Vol. 3 pp 123-138.
- Dilly, O. Winter, K. Lang, A. y Munch, J. C. (2001).** Energetic eco-physiology of the soil microbiota in two landscapes of southern and northern Germany. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 164, 407-413.
- Doran, J. W. y Safley, M. (1997).** Defining and Assessing Soil Health and Sustainable Productivity. En Biological Indicators of Soil Health. Eds. C. E. Pankhurst, B. M. Doube y V.V S.R. Gupta. CABI Publishing, Wallingford. U.K. 1-28
- Dott, W. (1995).** DECHEMA *Ad-Hoc* Committee. Methods for Toxicological /Ecotoxicological Assessment of Soils: Bioassays for Soils: 4th Report of the Interdisciplinary Dechema Committee-Environmental Biotechnology-Soil. DECHEMA, Frankfurt am Main. pp 45.

- Eisentraeger, A. Maxam, G. Rila, J. P. y Dott , W. (2000).** A Stepwise Procedure for Assessment of the Microbial Respiratory Activity of Soil Samples Contaminated with Organic Compounds. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 47, 65-73.
- EPA (1996).** Method 3052. Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. EPA [0], 3052-1 -3052 - 20. 1996. Unites States. Environmental Protection Agency. Disponible en la dirección web: <http://www.epa.gov/wastes/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3052.pdf> [20/06/2012].
- FAO (2006).** World reference base for soil resources. A framework for international classification, correlation and communication. World Soil Resources Report 103. 145. pp Disponible en la dirección: <ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/wsrr103e.pdf> [21/06/2012].
- Ferrari, S. Belevi, H. y Baccini, P. (2002).** Chemical speciation of carbon in municipal solid waste incinerator residues. *Waste Management* 22, 303-314.
- Fliebbach, A. Oberholzer, H. R. Gunst, L. y Mäder, P. (2007).** Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 118, 273-284.
- Forbes, M. S. Raison, R. J. y Skjemstad, J. O. (2006).** Formation, transformation and transport of black carbon (charcoal) in terrestrial and aquatic ecosystems. *Science of the Total Environment* 370, 190-206.
- Frische, T. y Höper, H. (2003).** Soil microbial parameters and luminescent bacteria assays as indicators for in situ bioremediation of TNT contaminated soils. *Chemosphere* 50, 415-427.
- García Álvarez, A. (1989).** Caracterización biológica de suelos representativos de la región central. Una aproximación al conocimiento de la dinámica del subsistema edáfico en ambientes mediterráneos. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. pp 221.
- García Álvarez, A. y del Riego Celada, L. A. (2010).** Perspectivas de la restauración en la situación económica actual. En: Plan director para la Restauración Edafopaisajística y Recuperación Ambiental de los Espacios Degradados por la Minería del Carbón en la Comarca de El Bierzo. Coordinadores: A. García Álvarez y F. Cantó Portillo. CIEMAT/CIUDEN, Ponferrada (Leon, España). pp. 229-236.
- García Sansegundo, J., Álvarez Lorenzo, S. Martínez Rius, A., Verges Masip, J. Ortega Girones, E. y Pascual Martínez , E. (1987).** Mapa Geológico de España E. 1:50.000 Almadén. IGME. Disponible en la dirección web: <http://www.igme.es/internet/cartografia/cartografia/datos/magna50/memorias/Magna0808.pdf> [21/06/2012].
- García, C. Hernández, T. y Costa, F. (1994).** Microbial activity in soils under mediterranean environmental conditions. *Soil Bioogy and Biochemistry* 26, 1185-1191.

- Ghani, A. Dexter, M. y Perrott, K. W. (2003).** Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilisation, grazing and cultivation. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 1231-1243.
- Gil-Sotres, F. Trasar-Cepeda, C. Ciardi, C. Ceccanti, B. y Leirós, M. C. (1992).** Biochemical characterization of biological activity in very young mine soils. *Biology and Fertility of Soils* 13, 25-30.
- Giller, K. E. Witter, E. y McGrath, S. P. (1998).** Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A Review. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1389-1414.
- Giller, K. E. Witter, E. y McGrath, S. P. (2009).** Heavy metals and soil microbes. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 2031-2037.
- González-Chávez, M. Aitkenhead-Peterson, J. A. Gentry, T. J. Zuberer, D. Hons, F. y Loeppert, R. (2010).** Soil microbial community, C, N, and P responses to long-term tillage and crop rotation. *Soil & Tillage Research* 106, 285-293.
- Gray, J. E. Hines, M. E. Higuera, P. L. Adatto, I. y Lasorsa, B. I. (2004).** Mercury Speciation and Microbial Transformations in Mine Wastes, Stream Sediments, and Surface Waters at the Almadén Mining District. Spain. *Environmental Science and Technology* 38, 4285-4292.
- Gutián-Ojea, F. y Carballas, T. (1976).** Técnicas de análisis de suelos. Pico Sacro, Santiago de Compostela. Spain. pp 288.
- Hall, C. M. Higuera, P. L. Kesler, S. E., Lunar, R. Dong, H. y Halliday, A. N. (1997).** Dating of alteration episodes related to mercury mineralization in the Almadén district, Spain. *Earth and Planetary Science Letters* 148, 287-298.
- Hernández Sobrino, A. M. (1995).** Las Minas de Almadén. Ed. Minas de Almadén y Arrayanes, S.A., Madrid. M-41391. pp 119.
- Hernández Sobrino, A. M. y Vinagre Moreno, J. (2012).** Los reclusos mineros de Almadén (1940-1944). Ed. Minas de Almadén y Arrayanes, S.A. pp 82.
- Higuera, P. Molina, J. A. Oyarzun, R. Lillo, J. y Esbrí, J. M. (2004).** Identification of the plant-communities and hyperaccumulators in mercury contaminated sectors of the Almadén district, Spain. *RMZ Materials and Geoenvironment* 1, 103-107.
- Higuera, P. Oyarzun, R. Biester, H. Lillo, J. y Lorenzo, S. (2003).** A first insight into mercury distribution and speciation in soils from the Almadén mining district, Spain. *Journal of Geochemical Exploration* 80, 95-104.
- Higuera, P. Oyarzun, R. Lillo, J. Sánchez-Hernández, J. C., Molina, J. A. Esbrí, J. M. y Lorenzo, S. (2006).** The Almadén district (Spain). Anatomy of one of the world's largest Hg-contaminated sites. *The Science of the Total Environment* 356, 112-124.

- Higueras, P. Oyarzun, R. Munhá, J. y Morata, D. (2000).** The Almadén Mercury Metallogenic Cluster (Ciudad Real, Spain): Alkaline Magmatism Leading to Mineralization Processes at an Interplate Tectonic Setting. *Revista de la Sociedad Geológica de España* 13, 105-119.
- IGN. (1992).** Atlas Nacional de España. Sección II. Grupo 7. Edafología. Instituto Geográfico Nacional. ISBN 84-7819-029-5. 11 pp. Disponible en la dirección web: <http://www2.ign.es/ane/ane1986-2008/> [21/06/2012].
- Insam, H. y Domsch, K. H. (1988).** Relationship between Soil Organic Carbon and Microbial Biomass on Chronosequences of Reclamation sites. *Microbial Ecology* 15, 177-188.
- Insam, H. y Haselw ander, K. (19 89).** Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. *Oecologia* 79, 174-178.
- Insam, H. Hutchinson, T. C. y Re ber, H. H. (1996).** Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. *Soil Biology and Biochemistry* 28, 691-694.
- Jenkinson, D. S. y Ladd, J. N. (1981).** Microbial Biomass in Soil: Measurement y Turnover. In *Soil Biochemistry* Vol. 5, Eds E. A. Paul y J. N. Ladd. Marcel Decker, Inc., New York and Basel. pp. 415-471.
- Kieft, T. L. Soroker, E. y Firestone, M. K. (1987).** Microbial Biomass Response to a Rapid Increase in Water Potential When Dry Soil is Wetted. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 119-126.
- Klumpp, A. Hinteman n, T. Santana-Lima, J. y Kandeler, E. (2003).** Bioindication of air pollution effects near a copper smelter in Brazil using mango trees and soil microbiological properties. *Environmental Pollution* 126, 313-321.
- Kumpiene, J. Robinson, R., Brännvall, E., Nordmark, D. Bjursträm, H., Andreas, L., Lagerkvist, A. y Ecke, H. (2011).** Carbon speciation in ash, residual waste and contaminated soil by thermal and chemical analyses. *Waste Management* 31, 18-25.
- Lacal Guzmán, M. y Herrero Barrero, T. (2010).** Hidrobiología. Índices biológicos y calidad de las aguas fluviales. En: Plan Director para la Restauración Edafopaisajística y Recuperación Ambiental de los Espacios Degradados por la Minería del Carbón en la Comarca de El Bierzo. Coordinadores: A. García Álvarez y F. Cantó Portillo. CIEMAT/CIUDEN, Ponferrada (León, España). pp. 87-108.
- Leirós, M. C. Trasar-Cepeda, C. Seoane, S. y Gil-Sotres, F. (2000).** Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, NW Spain): general parameters. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 733-745.
- Lindberg, S. Jackson, D. R. Huckabee, J. W. Janzen, S. A., Levin, M. y Lund, J. R. (1979).** Atmospheric Emission and Plant Uptake of Mercury from Agricultural

Soils near the Almadén Mercury Mine. *Journal of Environmental Quality* 8, 572-578.

Loveday, J. Beatty, H. J. y Norris, J. M. (1972). Comparison of current methods for evaluating irrigation soils. CSIRO Division of Soil Tech. Bull. N. 14. Canberra. Australia. pp 19.

Lucena, J. J. Hernández, L. E. Olmos, S. and Carpena Ruiz, R. (1992). Valoración de métodos de extracción de mercurio en suelos contaminados. *Suelo y Planta* 2, 747-755.

Marcos, A. (2004). Zona Asturoccidental - Leonesa. En: Geología de España, Coordinador J. A. Vera, SGE-IGME, Madrid. pp. 49-67.

Margesin, R., Zimmerbauer, A. y Schinner, F. (2000). Monitoring of bioremediation by soil biological activities. *Chemosphere* 40, 339-346.

Martens, R. (1987). Estimation of Microbial Biomass in soil by the Respiration Method: Importance of Soil pH and Flushing Methods for the Measurement of respired CO₂. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 77-81.

Matilla Tascón, A. (1987). Historias de las Minas de Almadén. Ed. Fundación Mayasa pp 492.

Mejuto Mendieta, M. (2011). Afectación de la Minería del Carbón en las Propiedades Físicas y Químicas de los Suelos de la Cuenca Hidrográfica del Río Rodrigo (El Bierzo, León). Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. pp 238.

Mejuto Mendieta, M. Cardona García, A. I. , Hernández Mendoza, H. Yllera del Llano, A. Millán Gómez , R. y García Álvarez , A. (2010 a). Influence of Edaphic Factors on Heavy Metals Mobility in Areas Affected by Coal Mining in El Bierzo District (León Province, Spain). SETAC Europa. Proceeding 20th Annual Meeting SETAC Europa.

Mejuto Mendieta, M. Schmid Sutter, T. Cantó Portillo, F. y García Álvarez , A. (2010b). Representación cartográfica del catálogo. Aplicaciones. En Plan Director para la Restauración Edafopaisajística y Recuperación Ambiental de los Espacios Degradados por la Minería del Carbón en la Comarca de El Bierzo. Coordinadores A. García Álvarez y F. Cantó Portillo. CIEMAT/CIUDEN, Ponferrada (León, España). pp. 119-135.

Mejuto, M. Millán, R. García, A. Schmid, T. y Martínez , P. E. (2008). Caracterización y Estudio de Escenarios Edafopaisajísticos en Zonas Afectadas por las Actividades Mineras en la Comarca de El Bierzo. Madrid, CIEMAT. Informes Técnicos Ciemat 1142. pp 87.

Millán, R. Schmid, T., Sierra, M. J. Carra sco-Gil, S., Villadóniga, M. Rico, C. Sánchez Ledesma, D. M. y Díaz -Puente, F. J. (2010). Spatial variation of biological and pedological properties in an area affected by a metallurgical mercury plant: Almadenejos (Spain). *Applied Geochemistry* 26, 174-181.

- Millán, R. Gamarra, R. Schmid, T. Sierra, M. J. Quejido A. J. Sánchez, D. M. Cardona, A. I. Fernández, M. y Vera, R. (2006).** Mercury content in vegetation and soils of the Almadén mining area (Spain). *Science of the Total Environment* 368, 79-87.
- Molina, J. A. Oyarzun, R. Esbrí, J. M. e Higuera, P. (2006).** Mercury accumulation in soils and plants in the Almadén mining district, Spain: one of the most contaminated sites on Earth. *Environmental Geochemistry and Health* 28, 487-498.
- Moreno-Jiménez, E. Gamarra, R. Carpena Ruiz, R. Millán, R. Peñalosa, J. M. y Esteban, E. (2006).** Mercury bioaccumulation and phytotoxicity in two wild plant species of Almadén area. *Chemosphere* 63, 1969-1973.
- Müller, A. Westergaard, K. Christensen, S. y Sorensen, S. J. (2001).** The effect of long-term mercury pollution on the soil microbial community. *FEMS Microbiology Ecology* 36, 11-19.
- Nelson, D. W. y Sommers, L. E. (1996).** Total Carbon, Organic Carbon and Organic Matter. In *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, ed Soil Science Society of America and American Society of Agronomy. Madison, WI. USA. pp. 961-1010.
- Nordgren, A. Bååth, E. y Söderström, B. (1988).** Evaluation of soil respiration characteristics to assess heavy metal effects on soil microorganisms using glutamic acid as a substrate. *Soil Biology and Biochemistry* 20, 949-954.
- Odum, E. P. (1969).** The Strategy of Ecosystem Development. *Science* 164, 262-270.
- Odum, E. P. (1985).** Trends Expected in Stressed Ecosystems. *BioScience* 35, 419-422.
- Orchard, V. A. y Cook, F. J. (1983).** Relationship between Soil Respiration and Soil Moisture. *Soil Biol. Biochem.* 25, 447-453.
- Pérez de Mora, A. Ortega-Calvo, J. J. Cabrera, F. y Madrid, E. (2005).** Changes in enzyme activities and microbial biomass after "in situ" remediation of a heavy metal-contaminated soil. *Applied Soil Ecology* 28, 125-137.
- Plassart, P. Vincelas, M. A. Gangneux, C. Mercier, A. Barray, S. y Laval, K. (2008).** Molecular and functional responses of soil microbial communities under grassland restoration. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 127, 286-293.
- Pochon, J. y Tardieu, P. (1962).** *Techniques d'analyse en microbiologie du sol.* Éditions de la Tourelle, Saint Mandé (Seine). France. pp 111.
- Porta, J. López-Acevedo M. y Roquero, C. (2003).** *Edafología para la agricultura y el medio ambiente.* 3ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. pp 960.
- Pribyl, D. W. (2010).** A critical review of the conventional SOC to SOM conversion factor. *Geoderma* 156, 75-83.

- Priha, O. y Smolander, A. (1994).** Fumigation-extraction and substrate-induced respiration derived microbial biomass C, and respiration rate in limed soil of Scots pine sampling stands. *Biology and Fertility of Soils* 17, 301-318.
- Reis, A. T. Rodrigues Morais, S. Davidson, M. Ch. Pereira, E. y Duarte, A. C. (2010).** Extractability and mobility of mercury from agricultural soils surrounding industrial and mining contaminated areas. *Chemosphere* 81, 1369-1377.
- Renella, G., Chaudri, A. M. y Brookes, P. C. (2002).** Fresh additions of heavy metals do not model long-term effects on microbial biomass and activity. *Soil Biology and Biochemistry* 34, 121-124.
- Rivas Martínez, S. (1987).** Mapa de las Series de Vegetación de España. ICONA. Serie Técnica 3-208 435 pp. Disponible en la dirección web: http://www.ucm.es/info/cif/book/mapa_series/mapa_series_01.pdf [21/06/2012].
- Rivas Martínez, S. Arnaiz, C. Barreno, E. y Crespo, A. (1977).** Apuntes sobre las provincias corológicas de la Península Ibérica e Islas Canarias. *Opuscula Botanica Pharmaciae Complutensis* 1, 1-48.
- Rodríguez Fernández, L. R. Matas González, J. Fernández, L., Abejaro, V., Fernández Pello, J. Nodal Ramos, T., Velando, F. y Martín García, L. (1982).** Mapa Geológico de España. E. 1:50.000. Noceda. Segunda Serie, primera edición. IGME Madrid. Disponible en la dirección web: <http://www.igme.es/internet/cartografia/cartografia/magna50.asp?hoja=127&bis> [21/06/2012].
- Rodríguez Gallego, V. Díaz Puente, F. J. García Frutos, F. J. y Escolano, O. (2002).** Contaje de bacterias heterótrofas viables en medio líquido (MPN). PT-CF-03, Procedimientos Técnicos. pp 9.
- Rodríguez Gómez, V. (2010).** Hidrogeoquímica. Mecanismos de formación de aguas ácidas. En: Plan Director para la Restauración Edafopaisajística y Recuperación Ambiental de los Espacios Degradados por la Minería del Carbón en la Comarca de El Bierzo. Coordinadores: A. García Álvarez y F. Cantó Portillo. CIEMAT/CIUDEN, Ponferrada (León, España). pp. 73-86.
- Roldán, A. Salinas-García, J. R. Alguacil, M. M. Díaz, G. y Caravaca, F. (2004).** Changes in Soil Microbial Activity Following Conservation Tillage Practices in a Sorghum Field under Subtropical Conditions. Raine, S. R. 2004. Brisbane. Australia. Conserving Soil and Water for Society: Sahrng Solutions. ISCO 2004. 13 International Soil Conservation Organisation Conference. Paper No. 687, 1-4.
- Rousk, J. Brookes, P. C. y Bååth, E. (2010).** Investigating the mechanisms for the opposing pH relationships of fungal and bacterial growth in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 926-934.
- Ruggiero, P. Terzano, R. Spagnuolo, M. Cavalca, L. Colombo, M. Andreoni, V. Rao, M. A. Perucci, P. y Monaci, E. (2011).** Hg bioavailability and impact on

bacterial communities in a long-term polluted soil. *Journal of Environmental Monitoring* 13, 145-156.

Ruiz-Diez, B. Quiñones, M. A. Fajardo, S. López, M. A., Higuera, P. y Fernández-Pascual, M. (2012). Mercury-resistant rhizobial bacteria isolated from nodules of leguminous plants growing in high Hg-contaminated soils. *Applied Microbiology and Biotechnology* 6-12. Disponible en la dirección web: <http://www.springerlink.com/content/k6884t4m5h817096/fulltext.pdf> [22/06/2012].

Sánchez, D. M. Quejido, A. J. Fernández, M. Hernández, C. Schmid, T. Millán, R. González, M. Aldea, M. Martín, R. y Morante, R. (2005). Mercury and trace element fractionation in Almadén soils by application of different sequential extraction procedures. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 381, 1507-1513.

Schmid, T. Millán, R. Sánchez, D. M. Quejido, A. J. Fernández, M. Sierra, M. J. y Vera, R. (2005). Mining influences on soils in the district of Almadén (Spain). Uhlmann, G., Annokée, J. y Arendt, F. Karlsruhe. Germany, Forschungszentrum Karlsruhe GmbH. 9th International FZK/TNO Conference on soil-water systems. 3-10-2005. Vol. 1, 2663-2669

Senesi, G. S. Baldassarre, G., Senesi, N. y Raddina, B. (1999). Trace element inputs into soils by anthropogenic activities and implications for human health. *Chemosphere* 39, 343-377.

SIEMCALSA (2009).- El carbón en Castilla y León. SIEMCALSA. Ed. Junta de Castilla y León. 26pp. Disponible en la dirección web: <http://www.siemcalsa.com/images/pdf/EI%20Carbon.pdf> [21/06/2012].

Sierra, M. J. Millán, R. Esteban, E. Cardona, A. I. y Schmid, T. (2008a). Evaluation of mercury uptake and distribution in *Vicia sativa L.* applying two different study scales: Greenhouse conditions and lysimeter experiments. *Journal of Geochemical Exploration* 96, 203-209.

Sierra, M. J. Millán, R. Cardona, A. I. y Schmid, T. (2011). Potential cultivation of *Hordeum vulgare L.* in soils with high mercury background concentrations. *International Journal of Phytoremediation* 13, 765-778.

Sierra, M. J. Millán, R. y Esteban, E. (2008b). Potential use of *Solanum melongena* in agricultural areas with high mercury background concentrations. *Food and Chemical Toxicology* 46, 2143-2149.

Sousa, J. P. Rodrigues, J.M.L. Loureiro, S. Soares, A.M.V.M. Jones, S.E., Forster, B. y Van Gestel, C.A.M. (2004). Ring-Testing and Field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TM) - An Instrument for Testing Potentially Harmful Substances: Effects of Carbendazim on Soil Microbial Parameters. *Ecotoxicology* 13, 43-60.

Sparling, G. P. (1997). Soil Microbial Biomass, Activity and Nutrient Cycling as Indicators of Soil Health. En: *Biological Indicators of Soil Health*, Eds. C.E.

Pankhurst, B. M. Doube y V.V.S.R. Gupta. CABI Publishing, Wallingford, U.K. pp. 97-120.

Sparling, G. P. Vojvodic-Vukovic, M. y Schipper, L. A. (1998). Hot-Water-Soluble C as a simple Measure of Labile Soil Organic Matter: the Relationship with Microbial Biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 30, 1469-1472.

Sparling, G. P. y West, A. W. (1990). A comparison of gas chromatography and differential respirometer methods to measure soil respiration and to estimate the soil microbial biomass. *Pedobiologia* 34, 103-112.

Talsma, T. (1968). Environmental studies on the Coleambally irrigation area and surrounding districts. Part III. Soil Salinity. Water Cons. and Irrig. Comm. NSW Bull. N° 2, 35-42.

Tebrügge, F. y Düring, R-A. (1999) . Reducing tillage intensity - a review of results from a long-term study in Germany. *Soil & Tillage Research* 53, 15-28. 1999.

Theenhaus, A., Maraun, M. y Scheu, S. (1997). Substrate-induced respiration in forest and arable soils measured by O₂ -microcompensation: moisture conditions and respiratory quotient. *Pedobiologia* 41, 449-455.

US EPA (2011). United States. Environmental Protection Agency. Drinking water contaminants. US EPA. Disponible en la dirección web: <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#List> [22/06/2012].

USDA (2010). United States. Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. Keys to Soil Taxonomy. 331 pp. Disponible en la dirección web: http://soils.usda.gov/technical/classification/tax_keys/ [21/06/2012].

USDA (2011 a). United States. Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. National Soil Survey Handbook. title 430-VI. Disponible en la dirección web: <http://soils.usda.gov/technical/handbook/contents/part618.html#18> [21/06/2012].

USDA (2011b). United States. Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service. Soil Texture Calculator. Disponible en la dirección web: http://soils.usda.gov/technical/aids/investigations/USDA_Soil_Texture_Calculator.xls [21/06/2012].

Vadillo Fernández, L. (2010). Geología de la Cuenca Carbonífera de El Bierzo. En: Plan Director para la Restauración Edafopaisajística y Recuperación Ambiental de los Espacios Degradados por la Minería del Carbón en la Comarca de El Bierzo. Coordinadores: A. García Álvarez y F. Cantó Portillo. CIEMAT/CIUDEN, Ponferrada (León, España). pp. 21-27.

Vadillo Fernández, L. Aduvire Pataca, O. Alberruche del Campo, M. E. Arranz González, J. D. Lacal Guzmán, M. Plédel Martínez, B. y Gutiérrez Moreno, C. (2006). Memoria del acuerdo específico de colaboración entre el Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT) y el

Instituto Geológico y Minero de España (IGME) para la Restauración Ambiental de la Región del Bierzo. Madrid. España pp 118.

- Vadillo Fernández, L. A rranz Gonz ález, J. C. Laca l Guz mán, M. y Martínez Piédel, B. (1996).** Estudio de Recuperación ambiental de la zona carbonífera Tremor-Valdesamario. Bierzo Oriental, León. Tomo 1. Memoria IGME. Madrid. España, pp 142.
- Vance, E. D. Brookes, P. C. y Jenkinson, D. S. (1987).** An Extraction Method for Measuring Soil Microbial Biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 19, 703-707.
- Walkley, A. y Black, I. (1934)** An examination of the Degtjareff Method for Determining Soil Organic Matter, and a Proposed Modification of the Chromic Acid Titration Method. *Soil Science* 37, 29-38.
- Wänger, I. Munthe, J. Pirrone, N. Iverfeldt, A. Bahlman, E. Costa, P. Ebinghaus, R. Feng, X. Ferrara, R. Gardfeldt, K. Kock, H., Lanzillota, E., Mamane, Y., Mas, F. Melamed, E. Osnat, Y. Prestbo, E. Sommar, J. Schmolke, S. Spain, G. Sprovieri, F. y Tuncel, G. (2001).** Atmospheric mercury distribution in Northern Europe and in the Mediterranean region. *Atmospheric Environment* 35, 3019-3025.
- Wardle, D. A. y Ghani, A. (1995).** A Critique of the Microbial Metabolic Quotient (qCO_2) as a Bioindicator of Disturbance and Ecosystem Development. *Soil Biology and Biochemistry* 27, 1601-1610.
- Wardle, D. A. y Parkin son, D. (1990a).** Comparison of Physiological Techniques for Estimating the Response of the Soil Microbial Biomass to Soil Moisture. *Soil Biology and Biochemistry* 6, 817-823.
- Wardle, D. A. y Parkinson, D. (1990b).** Interactions between microclimatic variables and the soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils* 9, 273-280.
- West, A. W. Sparling, G. P. y Grant W. D. (1986).** Correlation between four methods to estimate total microbial biomass in stored, air-dried and glucose-amended soils. *Soil Biology and Biochemistry* 18, 569-576.
- Wolters, V. y Joergensen, R. G. (1991).** Microbial carbon turnover in beech forest soils at different stages of acidification. *Soil Biology and Biochemistry* 23, 897-902.
- Zaballos Soriano, J. P. Pulido Pulido, S. y Gamarra Gamarra, R. (2010).** Vegetación y flora en la cuenca carbonífera de El Bierzo. En: Plan director para la Restauración Edafopaisajística y Recuperación Ambiental de los Espacios Degradados por la Minería del Carbón en la Comarca de El Bierzo. Coordinadores: A. García Álvarez y F. Cantó Portillo. CIEMAT/CIUDEN, Ponferrada (Leon, España). pp. 39-50.

ANEXO I: ESTADÍSTICA

ANEXO I.- ESTADÍSTICA.

OBJETO DEL ANEXO.

El objetivo del Anexo es incluir aquellos datos estadísticos que puedan ser relevantes para la profundización o la aclaración de la información presentada en el capítulo de Resultados y Discusión.

ALMADÉN

ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

La Tabla A1, recoge algunos descriptores estadísticos de las variables más relevantes en la discusión.

Tabla A1.- Estadísticos de variables relevantes en Almadén.

Variable	Media	Desviación Típica	Mediana	Mínimo	Máximo	Asimetría	Curtosis
WHC	48,60	15,44	43,22	32,87	97,77	1,87	2,96
densidad aparente	1,32	0,13	1,29	1,06	1,57	0,17	-0,62
pH H ₂ O	6,15	0,65	6,08	4,78	7,51	0,28	-0,03
C _{mic} (SIR)	656,26	481,68	515,39	117,75	2.104,47	1,35	1,59
Resp. basal	5,28	5,20	3,44	1,15	23,65	2,07	4,06
tasa máxima	4,47	3,33	3,34	1,00	16,17	1,93	3,99
q(CO ₂)	2,58	1,91	2,12	0,57	8,11	1,22	0,99
BHT(ln)	17,58	1,01	17,60	15,72	19,86	0,43	0,09
CO _{FO}	2,31	1,58	1,79	0,74	6,95	1,61	1,89
COT	3,19	2,43	2,16	0,83	9,66	1,59	1,51
N total	0,29	0,23	0,19	0,06	0,92	1,61	1,74
C _{mic} /C _{org}	2,92	1,25	2,90	1,16	6,05	0,37	-0,69

Error típ. de asimetría: 0,365

Error típ. de curtosis: 0,717

Para todas las variables n = 42

Tabla A2.- Estadísticos de variables relevantes en El Bierzo.

Variable	Media	Desviación Típica	Mediana	Mínimo	Máximo	Asimetría	Curtosis
WHC	62,99	23,89	64,30	28,13	118,59	0,58	-0,04
densidad aparente	1,16	0,32	1,11	0,55	1,70	0,15	-0,71
pH H ₂ O	5,32	0,92	5,01	4,19	7,68	1,51	2,04
C _{mic} (SIR)	416,82	254,06	404,36	35,32	855,54	0,16	-1,09
Resp. basal	4,83	4,42	3,31	0,19	18,36	1,98	3,98
tasa máxima	4,13	3,90	2,98	0,24	16,60	2,07	4,52
q(CO ₂)	3,20	1,57	3,09	1,18	7,56	1,20	1,63
BHT (ln)	16,77	0,91	16,66	15,25	18,37	0,17	-0,77
CO _{FO}	3,76	2,30	3,78	1,15	9,84	1,04	0,97
COT	8,99	6,58	6,59	1,87	21,94	0,79	-0,84
N total	0,43	0,23	0,44	0,12	1,05	0,75	0,60
C _{mic} /C _{org}	1,17	0,66	1,04	0,2	2,96	1,37	2,40

Error típ. de asimetría: 0,491

Error típ. de curtosis: 0,953

Para todas las variables n = 22

ANÁLISIS DE LAS DIFERENCIAS ENTRE LAS MEDIAS DE VARIABLES DE INTERES EN FUNCIÓN DEL MOMENTO DEL MUESTREO Y DEL USO DEL SUELO. ALMADÉN

Se ha aplicado a las variables siguientes:

CO_{FO}
Ratio COT/CO_{FO}
C_{mic}(SIR)
Respirometría basal
Cociente metabólico ($q\text{CO}_2$)
Tasa máxima de respiración
Relación C_{mic}/C_{org}

Se ha aplicado el procedimiento ANOVA de un factor. Las variables dependientes son las mencionadas anteriormente y las variables independientes han sido: momento del muestreo y uso del suelo. La hipótesis de igualdad de medias se contrastará mediante la obtención de un estadístico, llamado F , que refleja el grado de parecido entre las medias que se están comparando.

El estadístico F del ANOVA de un factor se basa en dos supuestos que son: normalidad y homocedasticidad. En cuanto a la normalidad se ha considerado que aún no ajustándose la variable a una distribución normal si que los grupos pueden ser relativamente grandes, especialmente en el caso de la comparación de las medias de esas variables dependientes según el momento del muestreo. Por otro lado la homocedasticidad o igualdad de varianzas se comprueba en cada caso mediante el test de Levene, que contrasta la hipótesis nula de que las varianzas poblacionales son iguales.

Si el valor Sig del test de Levene es $>0,05$ se asume homogeneidad de varianzas.

Los resultados de aplicación del test de Levene para las variables mencionadas se presentan en la Tabla A3.

Tabla A3. Valores Sig del test de Levene, época de muestreo

Variable	Valor Sig.
CO _{FO}	0,841
Ratio COT/CO _{FO}	0,694
C _{mic} (SIR)	0,684
Respirometría basal	0,246
Cociente metabólico ($q\text{CO}_2$)	0,047
Tasa máxima de respiración	0,561
Relación C _{mic} /C _{org}	0,095

Sólo una variable, el cociente metabólico, presenta un valor Sig en el test de Levene inferior a 0,05, el cociente metabólico. El resto de variables presentan un valor de Sig

que nos permite asumir homogeneidad de varianzas y así la posibilidad de aplicar ANOVA.

Posteriormente al realizar el ANOVA se obtiene el estadístico F que es el cociente entre dos estimadores de la varianza poblacional, uno basado en la variación existente entre los grupos (inter-grupos) y otro basado en la variación dentro de cada grupo (intra-grupo). El valor de F es el cociente entre las dos medias cuadráticas (obtenidas a su vez del cociente de la suma de cuadrados de cada fuente de variación por sus grados de libertad). Este valor F a su vez tiene su nivel de significación observado (Sig.), también denominado nivel crítico, cuando el nivel crítico ha estado por debajo de 0,05 se rechaza la hipótesis de igual de medias. Los resultados de estos niveles críticos para las variables estudiadas se presentan en la Tabla A4.

Tabla A4. Valores Sig. del test ANOVA para época de muestreo

Variable	Valor Sig.
CO _{FO}	0,413
Ratio COT/CO _{FO}	0,096
C _{mic} (SIR)	0,237
Respirometría basal	0,507
Cociente metabólico ($q\text{CO}_2$)	0,016
Tasa máxima de respiración	0,558
Relación C _{mic} /C _{org}	0,207

A excepción del cociente metabólico ninguna variable presenta diferencias estadísticamente significativas en virtud de la época de muestreo. En el caso del cociente metabólico el test ANOVA no puede presentar un valor significativo ya que en esta variable el valor Sig obtenido en el test de Levene no nos permite asumir igualdad de varianzas. En todo caso, como se puede apreciar en el diagrama de caja que acompaña los resultados si que se muestra una cierta tendencia a que los valores sean más altos en el otoño que en la primavera.

En el caso del análisis de las diferencias significativas en las medias de las variables con arreglo al uso tendremos que contar con cuatro grupos de usos de suelo cada uno con un número de muestras diferente:

Tabla A5. Grupos de uso y número de muestras en cada uso

Grupo	n
Afectado por metalurgia (AM)	22
Bosque mediterráneo (BM)	4
Uso Agrícola (AR)	10
Dehesa de pasto (DP)	6

Esto llevará a que cuando se utilice el test HSD de Tuckey se utilice el tamaño muestra de la media armónica, que es 7,116 y a que los niveles de error de tipo I no estén garantizados.

En el procedimiento para analizar si existen diferencias significativas en las medias de las variables con arreglo al uso que se hace del suelo también se analiza la homogeneidad de las varianzas por el test de Levene, los resultados se presentan en la tabla A15.

Tabla A6. Valores Sig del test de Levene, usos del suelo

Variable	Valor Sig.
CO _{FO}	0,013
Ratio COT/CO _{FO}	0,286
C _{mic} (SIR)	0,025
Respirometría basal	0,002
Cociente metabólico (qCO ₂)	0,031
Tasa máxima de respiración	0,003
Relación C _{mic} /C _{org}	0,639

En el caso de las variables cuyo valor Sig en el test de Levene es superior a 0,05, relación COT/CO_{FO} y relación C_{mic}/C_{org}, se puede realizar el test HSD de Tukey, cuyos resultados para estas variables son:

a).- No hay diferencias significativas debidas al uso en la relación COT/CO_{FO}. Valor Sig de ANOVA es 0,186 y el test de Tukey muestra un solo grupo para alfa = 0,05.

b).- Para la relación C_{mic}/C_{org} se forman dos subconjuntos homogéneos uno con uso agrícola y otro con afección metalúrgica y dehesa de pasto, mientras que el bosque mediterráneo se puede incluir en cualquiera de los dos subconjuntos con la misma probabilidad.

Tabla A7. Test HSD de Tukey para C_{mic}/C_{org} usos del suelo

Uso	N	Subconjunto $\alpha = 0,05$	
		1	2
Afección metalúrgica	22	2,4341	
Dehesa de pasto	6	2,6350	
Bosque mediterraneo	4	2,8725	2,8725
Agrícola	10		4,1860
	Sig.	0,860	0,103

Para el resto de variables en principio se puede utilizar el test de Games-Howell y además se recomienda el uso de estadísticos más robustos para estos casos en los que el valor Sig del test de Levene este por debajo de 0,05.

CO_{FO} en función del uso

Tabla A8. Resultados test robusto para CO_{FO} en función del uso

Test	Estadístico	gl 1	gl 2	Valor Sig.
Welch	12,401	3	9,737	0,001
Brown-Forshythe	14,308	3	9,568	0,001

Valores Sig < 0,05 indican diferencias entre los grupos, que según el Test de Games-Howell indicarían que la Dehesa de pasto forma un grupo diferente, mientras que bosque mediterráneo y afección metalúrgica forman otro grupo y el grupo de uso agrícola formaría un tercer grupo.

C_{mic}(SIR) en función del uso

Tabla A9. Resultados test robustos para C_{mic}(SIR) en función del uso

Test	Estadístico	gl 1	gl 2	Valor Sig.
Welch	3,034	3	9,649	0,082
Brown-Forshythe	5,483	3	11,096	0,015

En este caso hay un resultado contradictorio entre ambos test, mientras que el valor Sig obtenido en test de Brown-Forshythe nos indica que puede haber diferencias entre la medio de la variable C_{mic}(SIR) según el uso del suelo el valor Sig del test de Welch, así como el resultado del test post-hoc de Games Howell (nivel de confianza 0,5) nos indicarían que no hay diferencias estadísticamente significativas para C_{mic}(SIR) en función del uso.

Respirometría basal en función del uso

Tabla A10. Resultados test robustos para Respirometría basal en función del uso

Test	Estadístico	gl 1	gl 2	Valor Sig.
Welch	6,339	3	12,514	0,007
Brown-Forshythe	12,095	3	7,860	0,003

Valores Sig < 0,05 indican diferencias entre los grupos, el grupo que presenta una media de respirometría basal significativamente diferente según el Test de Games-Howell (nivel de confianza 0,5) es la Dehesa de pasto.

Cociente metabólico (qCO₂) en función del uso

Tabla A11. Resultados test robustos para Cociente metabólico en función del uso

Test	Estadístico	gl 1	gl 2	Valor Sig.
Welch	4,312	3	13,673	0,024
Brown-Forshythe	2,099	3	34,624	0,118

En este caso hay un resultado contradictorio entre ambos test, mientras que el valor Sig obtenido en test de Brown-Forshythe nos indica no hay diferencias estadísticamente significativas entre la medio de la variable Cociente metabólico entre los distintos usos del suelo el valor Sig del test de Welch si nos indica que puede haber al menos un grupo con una media diferente al resto. El resultado del test post-hoc de Games Howell (nivel de confianza 0,5) nos indica que hay diferencias entre las medias de los usos bosque mediterráneo y dehesa de pasto.

Tasa máxima de respiración en función del uso

Tabla A12. Resultados test robustos para tasa máxima de respiración en función del uso

Test	Estadístico	gl 1	gl 2	Valor Sig.
Welch	3,560	3	9,847	0,056
Brown-Forshythe	8,336	3	8,571	0,006

En este caso hay un resultado contradictorio entre ambos test, mientras que el valor Sig obtenido en test de Brown-Forshythe nos indica que puede haber diferencias entre la medio de la variable tasa máxima de respiración según el uso del suelo el valor Sig del test de Welch, así como el resultado del test post-hoc de Games Howell (nivel de confianza 0,5) nos indicarían que no hay diferencias estadísticamente significativas para tasa máxima de respiración en función del uso.

ANÁLISIS DE LAS DIFERENCIAS ENTRE LAS MEDIAS DE VARIABLES DE INTERES EN FUNCIÓN DEL MOMENTO DEL MUESTREO Y DEL USO DEL SUELO. EL BIERZO.

Tabla A13. Valores Sig del test de Levene, época de muestreo

Variable	Valor Sig.
CO _{FO}	0,220
Ratio COT/CO _{FO}	0,613
C _{mic} (SIR)	0,311
Respirometría basal	0,020
Cociente metabólico (<i>q</i> CO ₂)	0,047
Tasa máxima de respiración	0,008
Relación C _{mic} /C _{org}	0,994

Las variables resprometría basal, cociente metabólico y tasa máxima de respiración presentan un valor Sig en el test de Levene inferior a 0,05. El resto de variables presentan un valor de Sig que nos permite asumir homogeneidad de varianzas.

Tabla A14. Valores Sig. del test ANOVA para época de muestreo

Variable	Valor Sig.
CO _{FO}	0,762
Ratio COT/CO _{FO}	0,853
C _{mic} (SIR)	0,752
Respirometría basal	0,142
Cociente metabólico (<i>q</i> CO ₂)	0,049
Tasa máxima de respiración	0,035
Relación C _{mic} /C _{org}	0,938

Tasa máxima de respiración muestra nivel crítico por debajo de 0,05 rechazando pues la hipótesis de igualdad de medias.

Tabla A15. Valores Sig. test robustos para época de muestreo

Variable	Valor Sig.
Respirometría basal	0,151
Cociente metabólico (<i>q</i> CO ₂)	0,051
Tasa máxima de respiración	0,044

Sólo tasa máxima de respiración ofrece un valor sig estrictamente inferior de 0,05 y por lo tanto presenta diferencias en su media con respecto a la época de muestreo.

En el caso del analisis de las diferencias significativas en las medias de las variables con arreglo al uso tendremos que contar con tres grupos de usos de suelo cada uno con un número de muestras diferente:

Tabla A16. Grupos de uso y número de muestras en cada uso

Grupo	n
Escombrera (ES)	10
Pastos y riberas (PAR)	8
No afectados (NA)	4

Se ha utilizado el tamaño muestral de la media armónica = 6,316

Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos.

Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Tabla A17. Valores Sig del test de Levene, usos del suelo Bierzo

Variable	Valor Sig.
CO _{FO}	0,468
Ratio COT/CO _{FO}	0,050
C _{mic} (SIR)	0,336
Respirometría basal	0,027
Cociente metabólico (qCO ₂)	0,455
Tasa máxima de respiración	0,000
Relación C _{mic} /C _{org}	0,056

Sólo la respirometría basal y la tasa máxima presentan un valor Sig en el test de Levene inferior a 0,05. El resto de variables presentan un valor de Sig que nos permite asumir homogeneidad de varianzas y así la posibilidad de aplicar ANOVA con el test post-Hoc de Tukey. Aunque la relación COT/CO_{FO}, presenta un valor límite para asumir la homogeneidad de varianzas.

Los test robustos de respirometría basal y tasa máxima se presentan a continuación:

Tabla A18. Resultados test robustos para respirometría basal en función del uso

Test	Estadístico	gl 1	gl 2	Valor Sig.
Welch	4,011	2	6,151	0,077
Brown-Forshythe	2,574	2	4,799	0,174

Valores Sig menores de 0,05 indican diferencias entre los grupos, lo que en este caso no se puede asumir por ninguno de los dos test robustos.

Tabla A19. Resultados test robustos para tasa máxima de respiración en función del uso

Test	Estadístico	gl 1	gl 2	Valor Sig.
Welch	5,029	2	6,053	0,052
Brown-Forsythe	4,323	2	3,995	0,100

Valores Sig menores de 0,05 indican diferencias entre los grupos, lo que en este caso no se puede asumir por ninguno de los dos test robustos.

Tabla A20. Valores Sig. del test ANOVA para usos del suelo Bierzo

Variable	Valor Sig.
CO _{FO}	0,000
Ratio COT/CO _{FO}	0,209
C _{mic} (SIR)	0,000
Respirometría basal	0,025
Cociente metabólico (qCO_2)	0,833
Tasa máxima de respiración	0,002
Relación C _{mic} /C _{org}	0,219

Sig mayor de 0,05 implica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, lo que es aplicable para Ratio COT/CO_{FO}, Cociente metabólico (qCO_2) y relación C_{mic}/C_{org}.

Tabla A21. Resultados test robustos para relación COT/CO_{FO} en función del uso

Test	Estadístico	gl 1	gl 2	Valor Sig.
Welch	5,201	2	11,606	0,024
Brown-Forsythe	2,382	2	15,913	0,125

El test de Games-Howell que podría aplicar en este caso muestra diferencias estadísticamente significativas entre las escombreras y el suelo no alterado, mientras que los pastos y riberas no serían diferentes de los otros grupos mencionados

Sig. Menor de 0,05 implica diferencias entre los grupos, dentro de aquellas variables que presentan homogeneidad de varianzas sería aplicable a CO_{FO}; C_{mic}(SIR)

Tabla A22. Test HSD de Tukey para CO_{FO} usos del suelo.

Uso	N	Subconjunto $\alpha = 0,05$	
		1	2
Escombrera	10	2,2960	
Pasto/ribera	8	3,7763	
No alterado	4		7,3950
	Sig.	0,860	0,103

Tabla A23. Test HSD de Tukey para $C_{mic}(SIR)$ usos del suelo.

Uso	N	Subconjunto $\alpha = 0,05$		
		1	2	3
Escombrera	10	218,47		
Pasto/ribera	8		486,45	
No alterado	4			773,46
	Sig.	1,000	1,000	1,000

ANÁLISIS MULTIVARIANTE.

Análisis factorial

El análisis factorial es un método multivariante de ordenación que permite identificar y analizar las pautas o factores subyacentes en las relaciones que se establecen entre un conjunto de variables vinculadas a un espacio multivariante. Las construcciones factoriales representan una simplificación que facilita la comprensión de las relaciones que se establecen entre múltiples variables. El proceso seguido para la realización del análisis factorial incluye:

- Selección de variables.
- Cálculo de la matriz de correlaciones entre variables
- Extracción de los factores no rotados
- Rotación de factores
- Interpretación de la matriz de factores rotados.

El procedimiento de extracción utilizado es el de componentes principales, los factores obtenidos son los autovectores de la matriz de correlaciones re-escalados.

El método utilizado para la rotación es Varimax, es un método ortogonal que minimiza el número de variables que tienen saturaciones altas en cada factor, lo que simplifica la interpretación de los factores optimizando la solución por columna.

Análisis discriminante

El objetivo último del análisis discriminante es encontrar la función o combinación lineal de las variables independientes, función discriminante, que mejor permite diferenciar entre grupos, en nuestro caso puntos de muestreo, habitualmente esa función se utiliza a posteriori para la inclusión de nuevos casos y estudiar su incorporación a uno u otro de los grupos ya formalizados.

El procedimiento que se ha utilizado es el de inclusión por pasos. Se utiliza por defecto la Lambda de Wilks.. Cada variable independiente candidata a ser incluida en el modelo se evalúa mediante un estadístico F_{cambio} que mide el cambio que se produce en el valor de la lambda de Wilks al incorporar cada una de las variables al modelo. Obteniendo el valor del estadístico por cada variable, se incorpora al modelo la variable a la que le corresponde el mayor valor F_{cambio} –la que produce mayor cambio en la lambda de Wilks.

Análisis clúster

El análisis clúster, es un método multivariante de clasificación, de afinidad o taxonomía numérica que posee un carácter descriptivo, no inferencial, pero que puede ser útil en la clasificación jerárquica de objetos, en nuestro caso los puntos de muestreo, cuando estos están caracterizados por un conjunto de variables, se han utilizado todas las variables estudiadas, que son relevantes para la definición de dicho objeto.

El análisis de conglomerados jerárquico ha sido utilizado para aglomerar casos, puntos de muestreo. El análisis comienza calculando la distancia euclídea al cuadrado entre

cada par de elementos. A continuación se buscan los dos elementos más próximos y se agrupan en un conglomerado. El conglomerado resultante es indivisible a partir de ese momento, de ahí el calificativo de jerárquico. La distancia de ese nuevo conglomerado respecto a los restantes elementos de la matriz se calcula como la menor de la distancia entre cada elemento del conglomerado y el resto de elementos de la matriz. En los pasos sucesivos, la distancia entre dos conglomerados se calcula como la distancia entre sus dos elementos más próximos.

Análisis bivariante

El coeficiente de correlación lineal es una medida del grado de correlación que existe entre dos variables cuantitativas. De los diferentes procedimientos para calcular el coeficiente de correlación, el de uso más frecuente es el coeficiente de correlación lineal de Pearson, que resulta del cociente entre la covarianza de dos variables y el producto de sus desviaciones estándar, a un nivel de significación elegido (p).

En las páginas siguientes se recogen las matrices de correlaciones entre las variables estudiadas en ambos escenarios, en primer lugar la de Almadén, seguida por la de El Bierzo. El índice de correlación de Pearson se incluye en aquellos casos en que su magnitud absoluta es igual o superior a 0,418, independientemente de cual sea el signo de ese coeficiente. Por otro lado, en la tabla se indica el nivel de significancia del índice de correlación, en las casillas en blanco la correlación es significativa al nivel 0,01, en sombreado se indica que la correlación es significativa al nivel 0,05.

Matriz de correlaciones: Coeficiente de Correlación de Pearson

	VHC	humedad(% VHD)	claridad aparente	arena	limo	arcilla	pH	Hgct	Ntot	Ptot	Zntot	Ca	Na	K	Ctot	Cinorg	Corg	MO	NICOL	ON	WEC	H/WEC	WECtot	Cnic(FE)	Cnic(SIF)	basal	tasamínima	Cnic/ Corg	CFU		
claridad aparente	-0,538		1																												
arena				1																											
limo				-0,685	1																										
arcilla				-0,817		1																									
pH							1																								
conductividad 1:25																															
Hgct (n=21)								1																							
Ntot (n=21)									1																						
Ptot (n=21)							0,550		0,565	1																					
Zntot (n=21)							0,627		0,684	0,992	1																				
Ca (n=15)		0,589		-0,525		0,541	0,738	0,582				1																			
Mg (n=15)						0,624																									
Na (n=15)							0,683	0,775				0,671	1																		
K (n=15)			0,524		-0,634			0,521					0,562	1																	
Ctot	0,894		-0,568									0,633	0,871	0,585	1																
Cinorg							0,535		0,588	0,958	0,955	0,650	0,688			1															
Corg	0,902		-0,556									0,623	0,866	0,581	0,998		1														
MO	0,886												0,710	0,624	0,935		0,943	1													
Ntotal	0,886											0,758	0,838	0,630	0,958		0,959	0,939	1												
ON										0,750	0,671	-0,636								0,809						1					
WEC (n=15)	0,536			-0,541			0,544					0,771													-0,589	1					
H/WEC (n=15)		0,621					0,728	0,812				0,689	0,878	0,729	0,925	0,788	0,917	0,885	0,918							1					
WECtot (n=15)	0,520	0,605					0,756	0,789				0,761	0,868	0,694	0,882	0,785	0,884	0,844	0,912					0,601	0,987	1					
Cnic (FE) (n=15)		0,653					0,755	0,805				0,687	0,885	0,755	0,931	0,758	0,925	0,889	0,902						0,971	0,940	1				
Cnic (SIF)	0,707											0,566	0,805	0,819			0,832	0,840	0,835						0,744	0,694	0,806	1			
resp basal	0,828													0,524	0,813		0,811	0,737	0,790								0,723	1			
tasamínima	0,735												0,747	0,816	0,849		0,859	0,857	0,861							0,849	0,735	0,887	0,955	0,836	1
qCO2		-0,529								0,891	0,882									0,557											
Cnic/ Corg									-0,586		-0,513																			1	
RQbasal										0,521	0,522			0,713																	
RQglucosa									-0,542				0,543																	0,566	
CFU (n)	0,653												0,717	0,715	0,688		0,704	0,721	0,757				0,704	0,707	0,720	0,720	0,643	0,749		1	
adonimiclosin	0,507														0,604		0,605	0,586	0,605								0,604	0,528	0,600		0,801
ratio de adonimiclos													-0,559									-0,574	-0,574	-0,622						0,616	
ratio COI/COM																					-0,639										
Thiobacillus S2C3-S2C4							0,519		0,509	0,618	0,660											0,621									

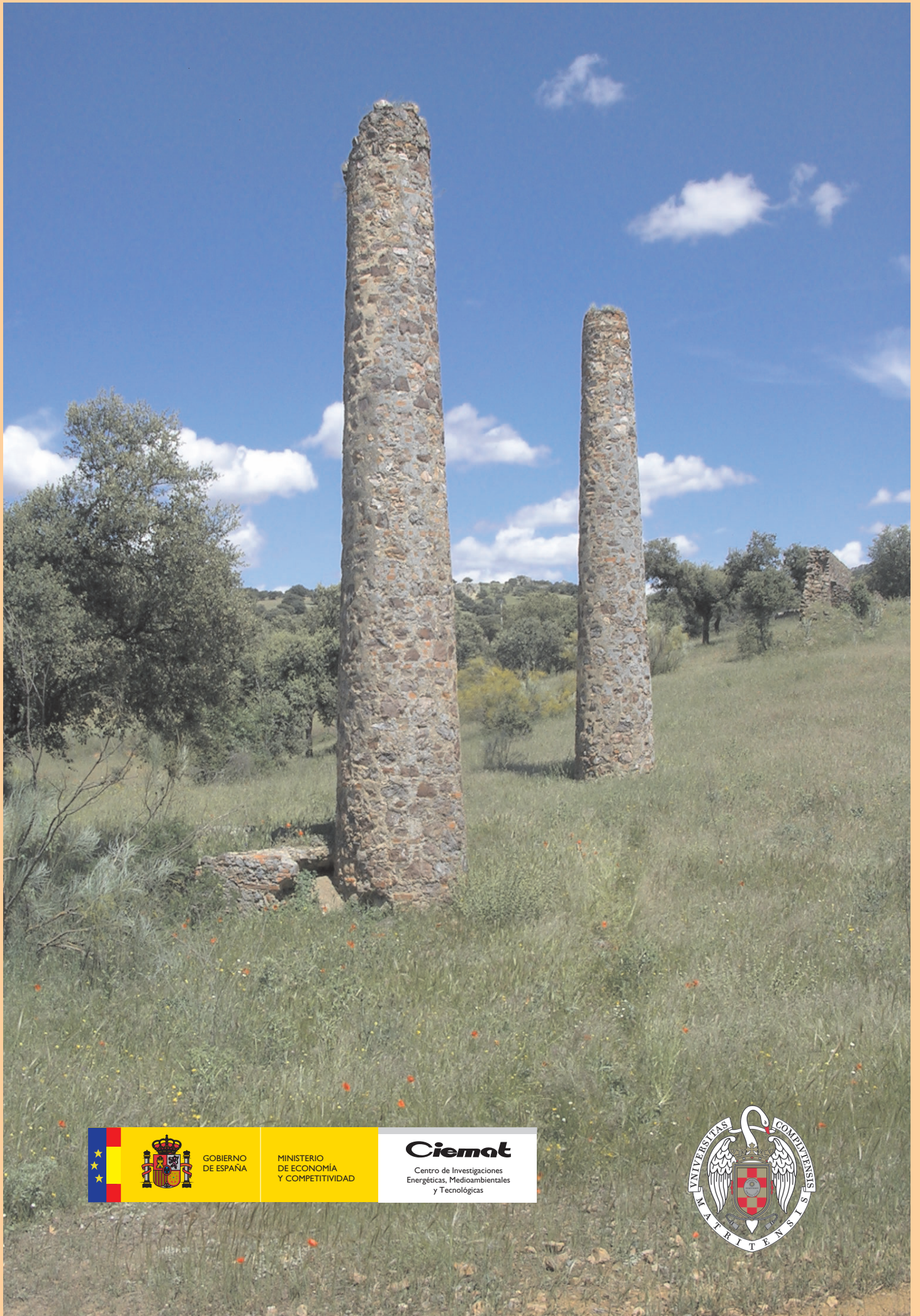
La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral). En sombreado correlación significativa al nivel 0,05

Matriz de correlación. Coeficiente de correlación de Pearson

	WHC	densidad aparente	HUMEDPF	LIMO	pH agua	masa microbiana	respirometría basal	tasa máxima	q CO2	relación Cmic/Corg	RQ basal	RQ glucosa	UFC	actinomicetos	ratio cfu actinomicetos	COFO	CTOTAL	CINORG	COT	N total	Hg tot	WSC	HWSC	TOTALWSC	Ni	Pb	Zn	
densidad aparente	-0,567																											
masa microbiana	0,728			-0,433																								
respirometría basal	0,861	-0,477				0,723																						
tasa máxima	0,824	-0,423		-0,457		0,955	0,836																					
q CO2			-0,529																									
relación Cmic/Corg		0,411							-0,548																			
RQ glucosa										0,599																		
UFC	0,653					0,720	0,643	0,749																				
actinomicetos	0,473					0,604	0,528	0,600					0,801															
ratio cfu actinomicetos													-0,616															
COFO	0,867	-0,510				0,846	0,784	0,874					0,710	0,555														
CTOTAL	0,865	-0,568				0,819	0,813	0,849					0,698	0,604		0,969												
CINORG				0,438	0,535																							
COT	0,872	-0,556				0,832	0,811	0,859					0,704	0,605		0,976	0,998											
relación COT/COfo																	0,437	0,459	0,410									
N total	0,856	-0,478				0,835	0,790	0,861					0,757	0,605		0,959	0,958											
C/N																					-0,401							
Hg tot																												
WSC	0,596				0,544										-0,574													
HWSC			0,621		0,728	0,744		0,849					0,704		-0,574	0,943	0,925	0,788	0,917	0,918	0,812							
TOTALWSC	0,520		0,605		0,756	0,694		0,795					0,707		-0,622	0,905	0,892	0,785	0,884	0,912	0,789	0,601	0,987					
MASAFE			0,653		0,755	0,806		0,887					0,720			0,961	0,931	0,758	0,925	0,902	0,805		0,971	0,940				
Ni									0,467	-0,576																		
Pb				0,502	0,550				0,891	-0,459	0,521														0,585			
Zn				0,464	0,627				0,882	-0,522	0,522														0,684	0,982		
carbonatos				0,485	0,590				0,884	-0,465	0,529														0,524	0,980	0,958	

Sin señal correlación significativa al nivel 0,01

Sombreado correlación significativa al nivel 0,05



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE ECONOMÍA
Y COMPETITIVIDAD

Ciemat

Centro de Investigaciones
Energéticas, Medioambientales
y Tecnológicas

