



Biología de Huelva

Naturaleza, Biodiversidad,
Bioindicadores y Biomarcadores

Rafael Torronteras Santiago
[Ed.]

 DIPUTACIÓN
DE HUELVA

 uhu.es
PUBLICACIONES

 CÁTEDRA
DE LA PROVINCIA



Biología de Huelva

Naturaleza, Biodiversidad,
Bioindicadores y Biomarcadores





Biología de Huelva

Naturaleza, Biodiversidad,
Bioindicadores y Biomarcadores



Rafael Torronteras Santiago [Ed.]

DATOS EDICIÓN

PRIMERA EDICIÓN EN FORMATO EBOOK: ENERO 2021

I.S.B.N. (ebook): 978-84-18984-95-2

© Servicio de Publicaciones
Universidad de Huelva

Maquetación y Ebook

© Rafael Torronteras Santiago [Ed.]

Art&maña Publicitaria (artimana.com)

Esta obra se publica bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 España



Obra sometida al proceso de evaluación de calidad editorial por el sistema de revisión por pares.

Publicaciones de la Universidad de Huelva es miembro de UNE

Reservados todos los derechos. Ni la totalidad ni parte de este libro puede reproducirse o transmitirse por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética o cualquier almacenamiento de información y sistema de recuperación, sin permiso escrito del editor. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutivo de delito contra la propiedad intelectual.

EL EBOOK LE PERMITE



Citar el libro



Navegar por marcadores e hipervínculos



Realizar notas y búsquedas internas



Volver al índice pulsando el pie de la página



Comparte
#LibrosUHU



Únete y comenta



Novedades a golpe de clic



Nuestras publicaciones en movimiento



Suscríbete a nuestras novedades

Índice

00. Prólogo	
Rafael Torronteras Santiago.....	9
01. Las bacterias extremófilas de los ríos ácidos de Huelva	
Francisco Córdoba García	17
02. Una microalga del río Tinto que aporta beneficios para la salud	
Francisco J. Navarro Roldán.....	51
03. Síntesis de la flora de la provincia de Huelva	
Adolfo F. Muñoz Rodríguez María Dolores Infante Izquierdo Enrique Sánchez Gullón	77
04. Vegetación general de Huelva	
Pablo J. Hidalgo Fernández	115
05. Hongos: ecología y biodiversidad en ecosistemas litorales de Huelva	
Francisco Javier Jiménez Nieva Francisco de Asís Sánchez González Cristina Caetano Sánchez	145
06. Monitorización del estrés ambiental en el medio acuático mediante la evaluación de biomarcadores inducidos por cadmio en <i>Carassius auratus</i> (Linneo, 1758)	
Yoselin Roa Aravena Antonio L. Canalejo Raya Rafael Torronteras Santiago	187
07. Moluscos dulceacuícolas de Huelva	
Juan Carlos Pérez Quintero	235
08. Anfibios y reptiles de la provincia de Huelva	
Juan Pablo González de la Vega Juan Carlos Pérez-Quintero	259
09. Ictiofauna continental onubense	
José Prenda Marín	295
10. Los mamíferos en Huelva	
Javier Calzada Carlos Gutiérrez-Expósito Jacinto Román Juan Quetglas	335
11. Ecología del litoral onubense (I): marismas mareales	
Eloy M. Castellanos Verdugo Carlos J. Luque Palomo	379
12. Ecología del litoral onubense (II): sistemas dunares	
Carlos J. Luque Palomo Eloy M. Castellanos Verdugo	417



Prólogo

Rafael Torronteras Santiago

Grupo Investigación de Respuestas Celulares al Estrés Ambiental (BIO-282). Área de Biología Celular. Departamento de Ciencias Integradas. Facultad de Ciencias Experimentales-Centro de Investigación RENSMA. Campus de Excelencia Ceimar. Universidad de Huelva. Campus de El Carmen. Bulevar de las Artes y las Ciencias, s/n. E-21071-Huelva. España.

Dr. Rafael Torronteras Santiago || torronte@uhu.es

Tel.: +34 959 21 98 91 || Fax: +34 959 21 94 67





Prólogo

Rafael Torronteras Santiago



Este libro surge como reconocimiento y modesto homenaje a la Biología en Huelva. A esa Biología con mayúsculas que los miembros, en su mayoría biólogos, del **Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública de la Universidad de Huelva**, quisieron *cultivar*, poner en valor y desarrollar con la constitución de dicho departamento y desde él. En este curso 2020/21 se han cumplido 20 años de la creación de ese querido departamento y que, desgraciadamente, fue eliminado en 2016 con motivo de las restricciones económicas impuestas por el Plan de Refinanciación de la Universidad. Dicho Plan supuso la fusión y desaparición de muchos departamentos, entre ellos el nuestro.

Para los biólogos de aquel Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública de Huelva era importante visibilizar, de manera institucional, la importancia y el gran valor de los estudios de Biología en la provincia de Huelva y, además, hechos desde su Universidad.

La configuración del **Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública** se fue fraguando desde que en 1997 (hace 25 años) empezaron a llegar a la Universidad de Huelva un grupo importante de nuevos profesores de Biología. Y ello fue posible gracias a la implantación de nuevos estudios en nuestra Universidad, como los de Ciencias Ambientales (curso 1996/97). Así se fueron contratando y se fueron formalizando plazas de profesorado universitario en 4 grandes áreas de conocimiento: en Biología Animal (Zoología), Biología Celular, Biología Vegetal (Botánica), y Ecología.

No obstante, y en honor a la verdad, hay que decir que la presencia de los estudios de Biología y de profesionales de la Biología (biólogos y biólogas) en la institución universitaria de Huelva no era nueva con la creación de este departamento, aunque sí era la primera vez que su presencia se consolidaba de manera institucional con departamento de biología, a la vez que se hacía más numerosa.

Los primeros biólogos y biólogas en los centros universitarios de Huelva estuvieron impartiendo sus conocimientos en la Escuela del Profesorado de E.G.B. de Huelva (antigua “Escuela Normal”), al principio dependiente de la Universidad de Sevilla y que se alojó en las instalaciones de lo que hoy conocemos como Campus de Cantero Cuadrado, y que son las dependencias actuales del Rectorado de la UHU. En esa Escuela Universitaria de Profesorado de E.G.B. se impartían especialidades de Ciencias Humanas, Literatura, Preescolar, Idiomas y Ciencias. Esta última especialidad incluía tres



grandes disciplinas, cada una integrada en un “Seminario” propio: “Seminario de Física y Química”, “Seminario de Matemáticas” y “Seminario de Ciencias Naturales”.

El Seminario de Seminario de Ciencias Naturales estuvo integrado originalmente por D^a Librada Vázquez Domínguez (licenciada en Ciencias Naturales y Catedrática de Escuela Universitaria), D^a Francisca Fernanda Fernández Illescas (licenciada en Ciencias Biológicas y Titular de Escuela Universitaria) y D^a Ana María Wamba Aguado (licenciada en Ciencias Biológicas y Titular de Escuela Universitaria), a los que se unieron D. Carlos González y Díaz de la Cortina (licenciado en Geología y Titular de Escuela Universitaria) y D. Miguel Ángel López Peña (licenciado en Ciencias Biológicas y Titular de Escuela Universitaria, que tras varios años en Huelva obtuvo una plaza en la Universidad de Sevilla). Tras la marcha de D. Miguel Ángel López Peña, se incorporó el profesor D. Francisco Córdoba García, como Catedrático de Escuela Universitaria, y al año siguiente se incorporó el también profesor D. Juan Carlos Pérez Quintero, como Titular de Escuela Universitaria.

Desde aquí también nuestro más profundo y eterno reconocimiento, admiración y agradecimiento a todos ellos por promover la enseñanza y el conocimiento de la Biología, y especialmente por hacerlo en tiempos difíciles donde la escasez de recursos y medios era habitual.

Con la creación de la Universidad de Huelva en 1993 y la adscripción de la Escuela de Magisterio a la UHU, los miembros (biólogos y biólogas) del “*Seminario de Ciencias Naturales*” de dicha Escuela se incorporaron a distintos departamentos de la nueva universidad. La profesora D^a Ana Wamba Aguado y el profesor D. Carlos González y Díaz de la Cortina se adscribieron al “Departamento de Didácticas Especiales”, mientras que los profesores, D^a Francisca Fernanda Fernández Illescas (Botánica), D. Francisco Córdoba García (Biología Celular), y D. Juan Carlos Pérez Quintero (Zoología) se integraron en la plantilla del Departamento de Ciencias Agroforestales, difuminándose así su presencia entre una inmensa mayoría de profesionales y áreas de la ingeniería, adscritas a ese mismo departamento.

En 1997 con la implantación de nuevas titulaciones, como la de Ciencias Ambientales, comienzan a incorporarse un mayor número de biólogos en el departamento de Ciencias Agroforestales, a distintas áreas de conocimiento.

Así, al **área de Ecología** se incorporan los profesores Eloy M. Castellanos Verdugo, Francisco Javier Jiménez Nieva y Carlos Javier Luque Palomo. En el **área de Biología Celular** se incorporan, además del mencionado profesor Francisco Córdoba García, los profesores Rafael Torronteras Santiago, Francisco J. Navarro Roldán y Antonio L. Canalejo Raya. En el **área de Botánica**, además de la mencionada profesora Francisca F. Fernández Illescas se incorporan los profesores Adolfo F. Muñoz Rodríguez y Pablo Hidalgo Fernández. Y, finalmente, en el **área de Zoología** se incorporan además del profesor Juan Carlos Pérez Quintero, los profesores José Prenda Marín y Javier Calzada Samperio.

Este grupo de biólogos y biólogas no solo se fueron incorporando a las distintas áreas de conocimiento que luego dieron origen a la creación del Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública, junto al área de Medicina Preventiva y Salud Pública, sino que también fueron creando y/o incorporándose a distintos grupos de investigación de la Universidad de Huelva, y adscritos al Plan de Investigación, Desarrollo e Innovación de la Junta de Andalucía (PAIDI). Así nos encontramos con la participación de estos biólogos y biólogas en los siguientes grupos de investigación:

**GRUPO BIO-282: Respuestas y Adaptaciones Celulares Frente al Estrés Ambiental.**

Dirigido por Francisco Córdoba García y con la participación entre otros miembros de Rafael Torronteras Santiago, Antonio L. Canalejo Raya y Pablo Hidalgo Fernández.

Grupo RNM-324: Biología de las Aguas Epicontinentales.

Dirigido por José Prenda Marín, y con la participación entre otros miembros de Juan Carlos Pérez Quintero.

GRUPO RNM-311: Ecología y Medio Ambiente.

Dirigido por Eloy M. Castellanos Verdugo, y con la participación entre otros miembros de Carlos J. Luque Palomo.

GRUPO RNM-358: Marismas y Playas.

Dirigido por Adolfo F. Muñoz Rodríguez, y con la participación entre otros miembros de F. Javier Jiménez Nieva y Javier Calzada Samperio.

GRUPO SEJ-523: Prevención de Riesgos Laborales.

Con la participación entre otros miembros de Francisco J. Navarro Roldán.

Muchas han sido las investigaciones que estos profesores y profesoras han realizado desde que empezaron a incorporarse a la Universidad de Huelva, y terminaron por constituir hace 20 años el **Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública**. De ello, da buena cuenta las numerosas y prestigiosas publicaciones y artículos científicos de sus *curricula*. Este libro sobre la Biología de Huelva supone todo un esfuerzo por mostrar parte de esos estudios biológicos en esta provincia. Cada uno de los distintos profesores de biología, y atendiendo a sus áreas de conocimiento, han dedicado uno de los capítulos de este libro a temas como la flora, la fauna, la vegetación, la ecología, los espacios naturales, la microbiología y las características ambientales de Huelva.

Así, en el **Capítulo 1**, se presentan “**las bacterias extremófilas de los ríos ácidos de Huelva**”. Estas bacterias son responsables en gran parte del denominado Drenaje Ácido de Rocas –cuando no se considera el efecto antropogénico- o del Drenaje Ácido de Minas –cuando su intensidad depende de las explotaciones mineras-, fenómeno por el cual se originan estas corrientes de agua caracterizadas por su acidez, color, y transporte de una variedad de metales. Estas bacterias tienen cada día mayor interés en la industria biometalúrgica. En otro sentido, la eliminación de metales de diversos residuos tiene también el interés cada vez mayor de mejorar la calidad ambiental y favorecer un desarrollo sostenible.



En el **Capítulo 2** se nos habla de “una microalga del río Tinto que aporta beneficios para la salud”, y donde se evalúa la capacidad antimicrobiana de algunos extractos obtenidos a partir de la microalga *Coccomyxa onubensis* (*C. onubensis*), un microorganismo extremófilo aislado de drenajes ácidos de la zona minera del río Tinto (Huelva, España). Así mismo la biomasa de esta microalga es rica en proteínas, lípidos, hidratos de carbono, antioxidantes y vitaminas, y, por lo tanto, su posibilidad de servir como alimento para animales también ha sido estudiada.

El **Capítulo 3** nos aporta una **síntesis de la flora de la provincia de Huelva** que posee una flora de plantas vasculares que reúne unos 1700 taxones, lo que supone una riqueza alta por su posición en un importante punto caliente de biodiversidad mundial. La singularidad de su flora es muy alta debido al gran número de endemismos que contiene, lo que determina que posea un número muy elevado de especies protegidas incluidas en el Catálogo de Especies Amenazadas de Andalucía. En Huelva habitan 10 taxones en peligro de extinción y 27 vulnerables, a los que hay que añadir 21 incluidos en el régimen de protección especial.

El **Capítulo 4** se dedica a la **vegetación general de Huelva** porque esta provincia es la de mayor superficie arbolada de Andalucía, aunque la mayoría de estos bosques proceden de plantaciones forestales, algunas muy antiguas. No obstante, aún conserva grandes extensiones de vegetación natural derivada de los enormes bosques mediterráneos de encina y alcornoque que poblaban la Península Ibérica. Se pueden identificar distintos tipos de encinares y alcornocales dependiendo de la litología y el bioclima. Con respecto a las plantaciones forestales, son muy frecuentes las de pinares y eucaliptares. Finalmente, en el corazón de la sierra, existen abundantes castaños, introducidos desde hace siglos para la explotación de su fruto y la madera.

El **Capítulo 5** nos habla de los **hongos: ecología y biodiversidad en ecosistemas litorales de Huelva**. En este capítulo nos centramos en la biodiversidad fúngica y su importancia en el funcionamiento de los ecosistemas terrestres onubenses, aspecto que ha permanecido hasta la fecha sumido en una importante laguna de conocimiento, usando como ejemplo 70 especies diferentes de hongos (aunque se citan un total de 292 especies distribuidas por los diferentes órdenes y las principales familias de este reino), seleccionadas entre las más representativas y/o singulares de la comarca del litoral onubense.

En el **Capítulo 6** se presenta un ejemplo de las muchas investigaciones ambientales realizadas en Huelva y dedicada a la **monitorización del estrés ambiental en el medio acuático mediante la evaluación de biomarcadores inducidos por cadmio en *Carassius auratus* (Linneo, 1758)**. La contaminación en el medio acuático es un problema cada vez más serio y que va en aumento. Los organismos acuáticos, pueden acumular los xenobióticos del agua contaminada o de la cadena trófica. En peces expuestos a bajas concentraciones de un metal como el cadmio, muy presente en los drenajes en Huelva, se produce una bioacumulación en los tejidos asociada a la inducción de estrés oxidativo y el desarrollo de daño genotóxico. Los biomarcadores tempranos de exposición y efecto utilizados en este estudio aparecen como herramientas útiles para la biomonitorización de la contaminación ambiental en el medio acuático.

El **Capítulo 7** nos habla de los **moluscos dulceacuícolas de Huelva**. La fauna de invertebrados de Huelva ha sido, en general, poco estudiada. Existe gran cantidad de información acerca de la estructura de las comunidades en entornos emblemáticos como el Parque Nacional de Doñana o el



Paraje Natural Marismas del Odiel, pero del resto de la provincia de Huelva sólo se conocen mosaicos aislados. En este capítulo se recapitula información sobre 12 familias, 30 géneros y 32 especies (26 autóctonas y 6 introducidas).

El **Capítulo 8** nos descubre los **anfibios y reptiles de la provincia de Huelva**. En él se presentan las especies estudiadas a lo largo 36 años de salidas al campo para la confección del Atlas Herpetológico de la Provincia de Huelva, y paralelamente, el Atlas Herpetológico de Andalucía. Se hace una breve reseña de cada una de las especies y se aportan fotografías de las mismas. En total son 43 las especies presentes en la geografía onubense, de ellas 13 son anfibios, 9 son quelonios, cinco de las mismas son tortugas marinas que deben ser tratadas como especies divagantes, y un galápagos americano introducido, pero con poblaciones estables y perfectamente aclimatada, 12 saurios, 1 anfisbénido y 8 ofidios.

El **Capítulo 9** se centra en la **ictiofauna continental onubense**. Los peces continentales son los vertebrados más diversos y los más amenazados. En total se aporta información sobre 96 localidades continentales, la mayoría fluviales, en las que se han registrado 38 especies de peces, de las que 18 son de distribución primaria, es decir, estrictamente continentales. Esta extraordinaria ictiofauna está expuesta a un grave riesgo de extinción, como se puede comprobar a partir de las extinciones locales registradas en este trabajo. De aquí se deduce que se deben redoblar los esfuerzos de protección de los hábitats acuáticos.

El **Capítulo 10** nos descubre **los mamíferos en Huelva**. Esta provincia posee 23 espacios protegidos, entre ellos un Parque Nacional, dos Parques Naturales, ocho Parajes Naturales, un Paisaje Protegido, tres Reservas Naturales y una Reserva Natural Concertada. Entre todos los espacios protegen el 30% del territorio de la provincia de Huelva. Pero lo que es menos conocido es que Huelva es también rica y diversa en mamíferos. Como relata este capítulo, se han citado en la provincia hasta 72 especies distintas de mamíferos y 51 son comunes: seis especies de insectívoros, ocho especies de roedores, dos de lagomorfos, 19 especies de murciélagos, tres especies de ungulados, 10 de carnívoros y tres cetáceos. No en vano la provincia cuenta con seis áreas ZIM, Zonas Importantes para los Mamíferos de España.

El **Capítulo 11** está dedicado a la **ecología del litoral onubense (1): marismas mareales**. Las marismas mareales son ecosistemas únicos, de alto valor ecológico, que ofrecen bienes y servicios que trascienden del ámbito geográfico local y repercuten tanto a escala regional como global. Huelva es rica en estos ecosistemas. Los organismos son mayoritariamente halófilos y sus productores primarios exclusivamente especies halófitas, con adaptaciones que les permiten vivir en estos ambientes. A escala regional, las marismas, son zona de cría, guardería y alimentación de numerosas especies animales en el Golfo de Cádiz, algunas de interés comercial. A escala global, las marismas onubenses estén mundialmente reconocidas por su importancia ornitológica, fundamentales para las aves de humedales que, en sus rutas migratorias, encuentra en las marismas de Huelva puntos de alimentación, descanso y reproducción.

Y el **Capítulo 12** nos habla de la **ecología del litoral onubense (2): sistemas dunares**. Los sistemas dunares costeros son ecosistemas de transición de distribución mundial. Si bien están ceñidos a una pequeña franja del litoral, aportan importantes bienes y servicios ecosistémicos. Sin embargo, son espacios sometidos a una enorme tensión ambiental debido a la gran demanda por parte del



hombre para establecer instalaciones y realizar otros usos y actividades en su territorio (viviendas, paseos marítimos, vías de comunicación, agricultura, balnearios, etc.). Se consideran espacios amenazados y llegando incluso a su eliminación. La mayor parte de la costa de la provincia de Huelva dispone de una inmensa riqueza de sistemas dunares, con diferentes formaciones geomorfológicas. Dunas blancas, bosques litorales y dunas móviles forman parte de los sistemas dunares de un enorme valor natural.

Esperamos que el lector disfrute con esta Biología de Huelva que aquí le hemos querido mostrar y, sobre todo, poniendo de relieve el altísimo valor biológico, ecológico y medioambiental de la provincia de Huelva, así como visibilizar y reconocer el trabajo que los biólogos y biólogas de la Universidad de Huelva realizan desde que empezamos a incorporarnos a ella.

Finalmente, queremos agradecer a la Universidad de Huelva, al Vicerrectorado de Extensión Cultural y al Servicio de Publicaciones de la Universidad que hayan facilitado y posibilitado que este libro pueda ver la luz para conocimiento por parte de todos los onubenses de la riqueza de su tierra, de su naturaleza. Nos mueve también a ello el favorecer su protección, defensa y conservación. Y, al mismo tiempo, que este libro sirva también de estímulo a todos aquellos apasionados por la Biología y no duden en lanzarse a su estudio y conocimiento.



01



Las bacterias extremófilas de los ríos ácidos de Huelva

Francisco Córdoba García*

Grupo Investigación de Respuestas Celulares al Estrés Ambiental (BIO-282). Área de Biología Celular.
Departamento de Ciencias Integradas. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Huelva.
Campus de El Carmen. Bulevar de las Artes y las Ciencias, s/n. E-21071-Huelva. España.

* Corresponding author

Dr. Francisco Córdoba García

|| fcordoba@dbasp.uhu.es

|| cordobagarciaf@gmail.com

Tel.: +34 959 21 98 96 || Fax: +34 959 21 94 67





Las bacterias extremófilas de los ríos ácidos de Huelva

Francisco Córdoba García



RESUMEN

Numerosos ríos y arroyos de la región minera del Andévalo están vinculados a la Faja Pirítica Ibérica y a la explotación minera que desde hace más de 4.000 años se viene realizando en la zona. Sus aguas se caracterizan por un intenso color rojo, por su extrema acidez y por transportar una variedad de metales. Aunque se pensaba que dichas aguas carecían de vida, en ellas habita una rica comunidad de microorganismos eucariotas y de bacterias. Ésta está constituida principalmente por bacterias aerobias quimiolitotróficas hiperacidófilas, siendo *Acidithiobacillus ferrooxidans* la especie más abundante. Estas bacterias son responsables en gran parte del denominado Drenaje Ácido de Roca –cuando no se considera el efecto antropogénico– o del Drenaje Ácido de Mina –cuando su intensidad depende de las explotaciones mineras–, fenómeno por el cual se originan estas corrientes de agua caracterizadas por su acidez, color, y transporte de una variedad de metales. Por otra parte, estas bacterias tienen cada día mayor interés en la industria biometalúrgica dada su capacidad oxidativa y lixiviadora de compuestos inorgánicos reducidos como los sulfuros metálicos, pudiendo aplicarse para recuperar metales de minas agotadas, de aguas de drenajes, o de materiales derivados de la industria, por lo que tienen un interés comercial. En otro sentido, la eliminación de metales de diversos residuos tiene también el interés cada vez mayor de mejorar la calidad ambiental y favorecer un desarrollo sostenible.

ABSTRACT

Many rivers and streams in the Andévalo mining region are linked to the Iberian Piryitic Belt and to the mining exploitation that has been taking place in the area for more than 4,000 years. Their waters are characterized by an intense red color, by their extreme acidity and by transporting a variety of metals. Although it was thought that such waters lacked life, a rich community of eukaryotic micro-organisms and bacteria have been identified. This is mainly composed of aerobic, hyperacidophilic aerobic bacteria, with *Acidithiobacillus ferrooxidans* being the most abundant species. These bacteria are responsible for a large part of the so-called Acid Rock Drainage (when the anthropogenic effect is not considered) or the Acid Mine Drainage –when its intensity depends on mining operations–, a phenomenon that gives rise to these coloured, acidic and metals-transporting waters. On the other hand, these bacteria have increased interest in the biometallurgical industry due to their oxidative capacity and leaching capacity of reduced inorganic compounds such as metal sulfides, since they can be applied to recover metals from depleted mines, drainage waters, or materials derived from the industry, so they have a commercial interest. In another sense, the elimination of metals from various wastes also has the growing interest in improving environmental quality and favoring sustainable development.

PALABRAS CLAVE

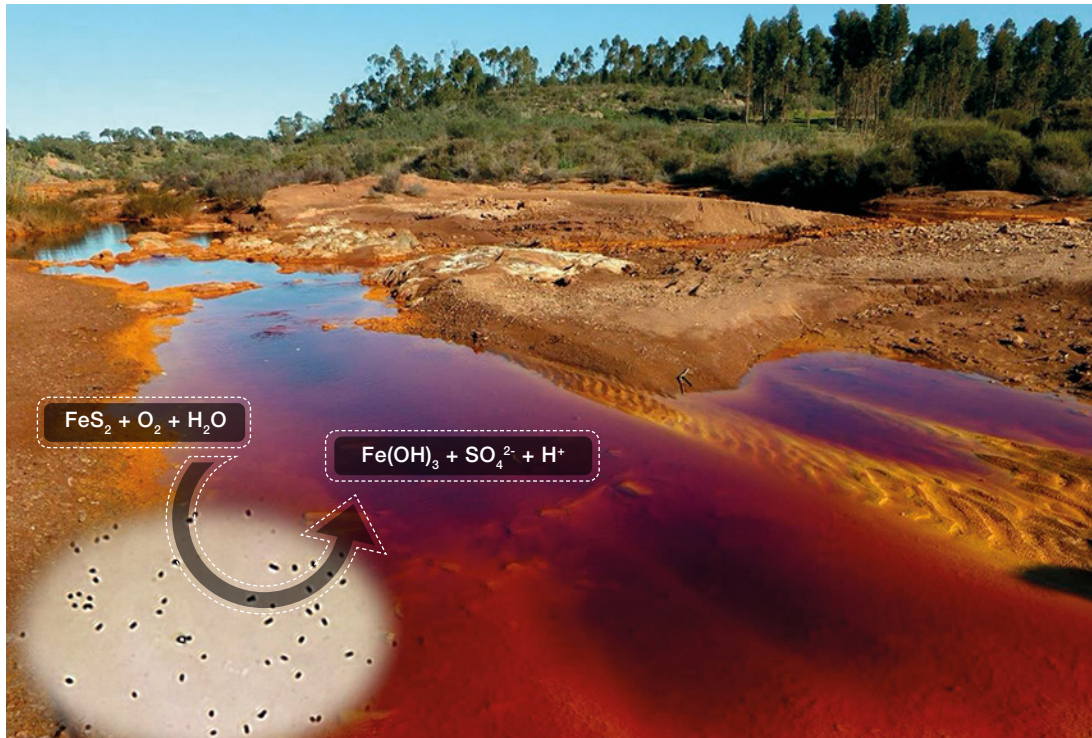
Bacterias hiperacidófilas, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, Drenaje Ácido de Roca y de Mina, Biominería y Biometalurgia



FIGURA
01-0

La ribera de Agustín (próxima a Alosno).

FOTOGRAFÍA: F. Córdoba



A la izquierda abajo, bacterias acidófilas en cultivo. Se muestra también la reacción global de oxidación de la pirita catalizada por las bacterias.

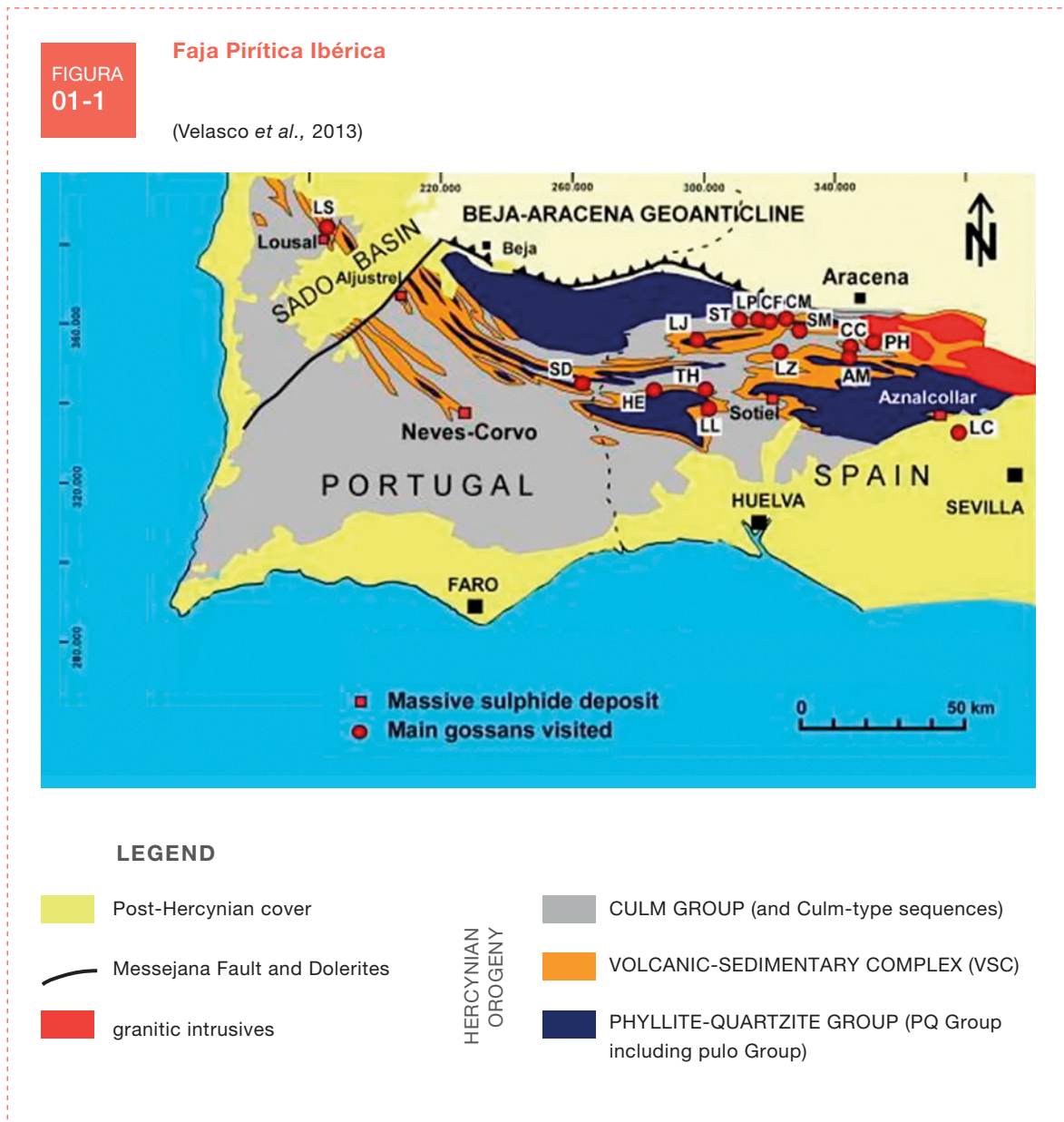
[1]

La faja pirítica de Huelva

La provincia de Huelva se caracteriza por incluir la mayor parte de la denominada faja pirítica ibérica, la cual representa probablemente la mayor acumulación de sulfuros masivos polimetálicos de la corteza terrestre. La faja pirítica se extiende unos 250 km y tiene una anchura promedio de unos 30 km [FIGURA 01-1]. Sus límites los hallamos, al este, en la provincia de Sevilla y hacia el oeste, en la comarca del Baixo Alentejo portugués. La historia de su explotación se remonta a más de 4.000 años de antigüedad en los que el cobre, la plata, el oro y más recientemente el azufre (de interés para fabricar ácido sulfúrico) han sido los metales más demandados (Tornos, 2008; Tornos *et al.*, 2009).



La exposición de las piritas al oxígeno y al agua provoca su oxidación, generando acidez y sulfatos y diversas formas oxidadas de hierro. Las aguas de escorrentía, al atravesar los materiales piríticos, adquirirán entonces su característico color rojizo y su extrema acidez, a la vez que transportarán una ingente cantidad de metales lixiviados a través de las cuencas fluviales hasta el océano. Este fenómeno, de origen natural, se denomina Drenaje Ácido de Roca, y dadas sus consecuencias ambientales y la intervención decisiva de ciertas bacterias en su desarrollo requiere nuestra atención.





[2]

El Drenaje Ácido de Mina

Desde mediados del siglo XIX, la actividad minera cobró una importancia fundamental. Se aplicaron nuevos y más eficaces sistemas de extracción de minerales en función de la demanda de cobre en particular y de ácido sulfúrico. Su incidencia en la provincia de Huelva fue y es notable por cuanto, en algo más de un centenar de años, cambió su fisonomía, sus sistemas productivos, su arquitectura, sus vías de comunicación, sus costumbres e incluso las formas de relación entre los distintos estratos sociales.

La Huelva que hoy vislumbra el visitante es la consecuencia, positiva en muchos sentidos pero también negativa en muchos otros, de la frenética actividad minera e industrial que se desarrolló desde los años 50 del pasado siglo.

Restringiéndonos al desarrollo de la minería, en el Andévalo onubense se abrieron más de 80 minas que, con frecuencia, realizaban una explotación a cielo abierto dando lugar a extensos socavones de forma más o menos cónica, que se denominan “cortas”. Las cortas Atalaya o de Cerro Colorado en las proximidades de Riotinto son abrumadoras por sus dimensiones, pero también los llamados filones –Norte, Sur, y Centro- de Tharsis o la corta de Santa Bárbara de San Telmo en el término municipal de Cortegana. Los cursos de agua que surgen de las explotaciones mineras tendrán un intenso color rojo, serán de una acidez extrema y conducirán numerosos metales disueltos o en suspensión, pero también permitirán el desarrollo de una vida singular, sea en sus aguas, sea en los suelos afectados por éstas, como es el caso de la presencia de *Erica andevalensis*, el brezo de las minas, endémico de la Faja Pirítica (Márquez et al, 2004) [FIGURA 01-2].

Las paredes de las cortas contienen materiales oxidados de hierro, que le dan su color, y se encuentran más o menos inundadas de agua de un intenso color rojo, que en función del volumen contenido se ve oscurecido, aunque en su quietud aparecen tonos azules por el reflejo del cielo. Desde estas zonas de explotación masiva de sulfuros metálicos se desarrollan corrientes de agua formando una red de ríos y arroyos que confluyen en los dos ríos que conforman el estuario de la ciudad de Huelva: el río Tinto y el río Odiel. Y así, Huelva, como una Mesopotamia de occidente se halla entre ríos que en su desembocadura han ido depositando durante milenios metales derivados de la oxidación natural de los sulfuros de la faja pirítica.

El análisis de la edad de estos materiales y de su ritmo de acumulación refleja con claridad que el drenaje ácido se incrementó notablemente en la época de las explotaciones romanas, pero el incremento fue exponencial en el periodo que se inicia alrededor de 1850. Es por ello que se denomina Drenaje Ácido de Mina (AMD, por sus siglas en inglés). al conjunto de procesos naturales de oxidación y lixiviación de sulfuros cuando estos se derivan de las actividades vinculadas a la minería y a la industria que la acompaña, lo cual explica la extrema acidez de los ríos y el transporte de metales derivados de la pirita (FeS_2), calcopirita (CuFeS_2), esfalerita o blenda (ZnS), galena (PbS), arsenopirita (FeAsS), entre otros (Olías y Nieto, 2015).

Debe subrayarse que, tal y como indican Gómez-Ortiz *et al.* (2014), el drenaje ácido de piritas es un proceso natural –físico, químico y biológico- que se remonta al menos a finales del Mioceno (unos 6 millones de años). Los autores mencionados subrayan que sus “resultados implican que la actividad minera tuvo poca influencia en la generación de aguas ácidas fluviales”. Sin embargo, debe consi-



FIGURA
01-2

Imágenes de los paisajes mineros

FOTOGRAFÍA: F. Córdoba



- A:** Filón norte de Tharsis
B: *Erica andevalensis* creciendo junto al río Odiel a su paso por Sotiel-Coronada
C: Cerro Colorado entre Río Tinto y La Dehesa
D: El color de las aguas ácidas.

derarse que las explotaciones mineras pusieron al descubierto cantidades ingentes de toneladas de material, antes aislado del oxígeno y del agua, y por otra parte que el volumen de material extraído se fragmentó de tal manera que la superficie de las piritas expuestas a las condiciones atmosféricas aumentó extraordinariamente. Únanse a esto procedimientos poco eficaces y sobre todo poco respetuosos con el medio ambiente en la metalurgia del siglo XIX y de la mayor parte del siglo XX, y el abandono a la intemperie de restos de materiales muy fragmentados derivados de la actividad minera (las llamadas escombreras), y tendremos una imagen, que se puede considerar dramática, de uno de los mayores fenómenos de impacto y degradación ambiental de Europa (Sánchez-España *et al.*, 2005; Grande *et al.*, 2011; Olías y Nieto, 2015). Para estos Olías y Nieto (2015) “los procesos naturales de drenaje ácido de rocas pueden ser despreciados”. El fenómeno del drenaje ácido de minas no es exclusivo de la Faja Pirítica Ibérica, sino que afecta a otras muchas regiones piritíferas del planeta (ej. Huang *et al.*, 2016).



En cualquier caso, la presencia de la faja pirítica y la extracción de los minerales que encierra a lo largo de milenios ha configurado el paisaje del Andévalo onubense, único en el mundo. Al respecto, la singularidad del río Tinto es tal, que la Junta de Andalucía declaró el “Paisaje Protegido del Río Tinto” mediante el Decreto 558/2004 de 14 de diciembre, siendo sus objetivos (art.2):

- a) Conservar la riqueza geomorfológica originada como consecuencia de las actividades mineras en la zona.
- b) Mantener las peculiares características de las aguas del Río Tinto que permiten la existencia de especies singulares adaptadas a condiciones extremas como consecuencia de la alta acidez y concentración de sales ferruginosas de sus aguas.
- c) Garantizar el desplazamiento de la fauna silvestre entre los espacios naturales que se conectan, conservando y protegiendo las poblaciones y hábitats de las especies que se encuentren presentes en el ámbito del paisaje, especialmente el lince ibérico, así como estableciendo las conexiones funcionales con los espacios naturales del entorno.
- d) Conservar los sistemas naturales existentes en su ámbito territorial y colaborar con los programas internacionales de conservación, protegiendo y facilitando para ello, la difusión de los valores naturales, faunísticos, botánicos, paisajísticos y culturales que se encuentran en la zona.
- e) Llevar a cabo la dotación de equipamientos e infraestructuras medioambientales que contribuyan, con estricto respeto a los valores naturales, al uso público y al disfrute del paisaje, desarrollando programas de educación ambiental y otras actuaciones relacionadas con la naturaleza.
- f) Promover la investigación científica cuyo objeto sea el conocimiento de aspectos relacionados con la conservación, ordenación y gestión de este espacio natural.
- g) Promover la sensibilización y actuaciones participativas y de implicación de la población local en la conservación de este espacio.
- h) Regenerar los sistemas degradados, sin alterar las peculiaridades del paisaje minero y la singularidad de sus aguas.

Es por ello que la restauración mediante tratamientos pasivos de los drenajes ácidos de minas, considerada necesaria dado el nivel de acidez y la elevada concentración de metales pesados que transportan los ríos afectados, se lleva a cabo en cursos de agua vinculados a la cuenca del Odiel (Sarmiento *et al.*, 2017).



[3]

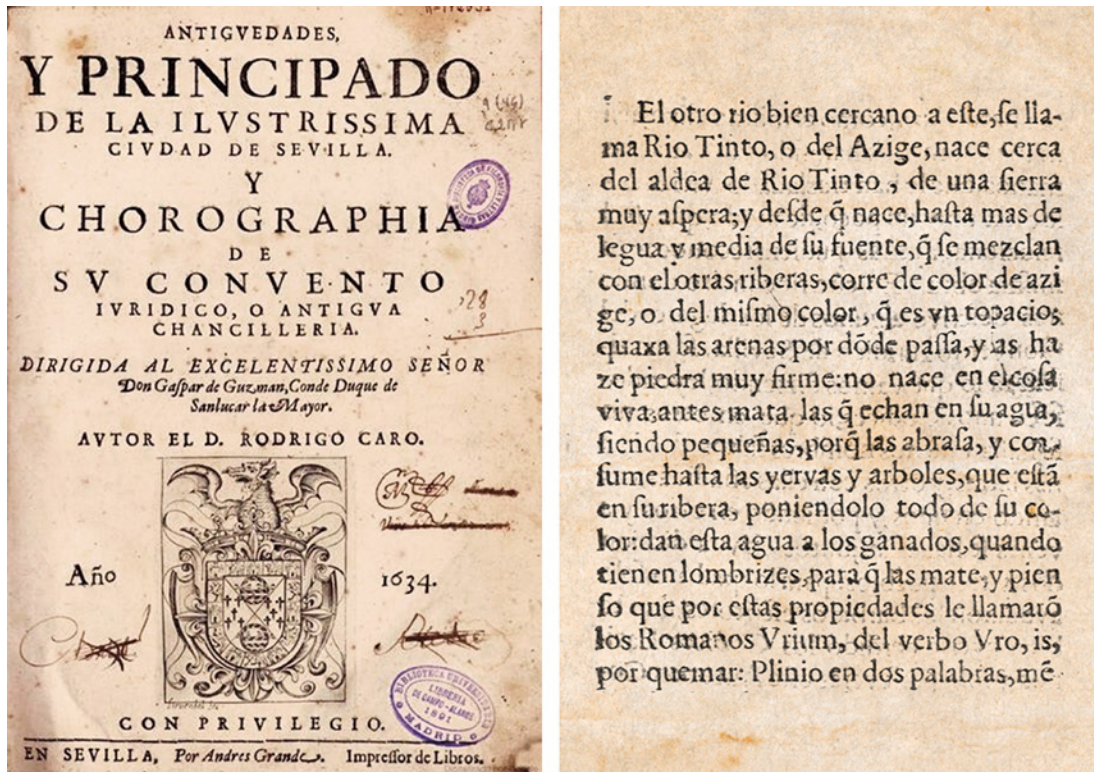
Las bacterias de los ríos ácidos de Huelva

El río Tinto en particular parece carecer de vida como expresa, por ejemplo, el poeta e historiador sevillano Rodrigo Caro (1563-1647) quien dice que “no nace en él cosa viva, antes mata las que echan en su agua” [FIGURA 01-3].

FIGURA
01-3

Portada y la página 99 de “*antigüedades y principado de la ilustrísima ciudad de Sevilla y chorographia de su convento jurídico, o antigua chancillería*” de Rodrigo Caro (1634).

FUENTE: www.cervantesvirtual.com



Sin embargo, desde el Centro de Astrobiología de Madrid y bajo la dirección del Dr. Ricardo Amils se han realizado numerosos estudios que demostraron que las aguas del río Tinto contienen una rica comunidad de especies bacterianas –procariotas- y de algas, hongos y protozoos – eucariotas- (Aguilera, 2013; Amils, 2016)



Las bacterias más abundantes en las aguas ácidas del Tinto se califican, desde un punto de vista metabólico, como quimiolitotóxicas aerobias. Esta terminología nos indica que su fuente de energía y de poder reductor proviene de materia inorgánica reducida (los sulfuros metálicos), y que poseen la maquinaria necesaria para reducir el CO_2 del aire hasta formar compuestos orgánicos. Su metabolismo implica además que utilizan el oxígeno como aceptor final de electrones derivados de la oxidación de la materia orgánica sintetizada en su seno. Además, su pH óptimo de crecimiento se sitúa en torno a 2, por lo que se consideran como bacterias extremas hiperacidófilas.

Las bacterias más representativas de las aguas del Tinto son, por orden de abundancia, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans* y *Acidiphilium* sp. Las dos primeras especies representan aproximadamente el 50% del total de las bacterias identificadas. Y son las principales responsables de la oxidación del hierro en el ecosistema del Tinto (García-Moyano *et al.*, 2007). Sin embargo, en las aguas de lagos de residuos ácidos de cortas de minas (*pit lakes*), la proporción de géneros bacterianos es diferente y muy variable según el área de muestreo y la profundidad del mismo. Así, en superficie abundan *Acidiphilium* y *Leptospirillum*; en profundidad *A. ferrooxidans* es más frecuente, probablemente porque dada su condición de bacteria anaerobia facultativa utiliza el sulfato como agente oxidante. Otros géneros identificados son: *Metallibacterium*, *Ferrimicrobium*, *Acidiphilaera*, etc.; en general hay pocas arqueobacterias (Santofimia *et al.*, 2013; González-Toril *et al.*, 2014).

Sea en el Tinto o en otros ambientes ricos en sulfuros, se conocen una variedad de bacterias acidófilas que oxidan hierro y/o azufre y que pertenecen a los géneros *Acidianus*, *Ferroglobus*, *Ferrimicrobium*, *Ferroplasma*, *Metallosphaera*, *Sulfobacillus*, *Sulfolobus*, etc. (Jia *et al.*, 2018; Quatrini y Johnson, 2018). En general se trata de eubacterias –en algunos casos archeobacterias– mesófilas a hipertermófilas, cuyo pH óptimo de crecimiento se encuentra entre 1 y 4.

El drenaje ácido se produce en unas circunstancias concretas que comienzan cuando los sulfuros metálicos se exponen al oxígeno del aire:



La reacción anterior, o **reacción de iniciación**, produce condiciones ácidas.

Cuando el pH es mayor a 4,5, el ión ferroso (Fe^{2+}) generado se oxida espontáneamente en el aire a ión férrico (Fe^{3+}), pudiendo formar hidróxido férrico $\text{Fe}(\text{OH})_3$, que precipita a $\text{pH} > 3$:



Realmente el hidróxido férrico es una mezcla de óxidos férricos hidratados y la base para la formación de minerales oxidados e hidratados de hierro, como la goethita (un óxido hidróxido de hierro(III)), u otros asociados a los sulfatos como la jarosita (un sulfato hidratado de potasio y hierro) Al respecto, recientemente Gang *et al.* (2017) han demostrado mediante el uso de medios sintéticos que usan FeSO_4 como fuente de hierro(II) que el principal mineral precipitado por la actividad de *Acidithiobacillus ferrooxidans* es jarosita bien cristalizada. En las riberas de los ríos ácidos, una variedad de minerales ricos en sulfato y hierro precipitarán por evaporación dando lugar a los típicos



colores amarillo-anaranjados-rojizos de las sales que tuvieron una extraordinaria importancia para la obtención de acije, aceche o caparrosa (sulfatos metálicos usados en la industria textil como colorantes y mordientes), una actividad que se inició en el califato y que continuó hasta el siglo XVII¹) (Olías y Nieto, 2015).

Cuando las aguas se vuelven ácidas, el Fe²⁺ formado es más estable en presencia de oxígeno. El Fe(OH)₃ también se hace más soluble a pH bajo, y ya que la concentración de Fe³⁺ aumenta al aumentar la acidez, el papel del Fe³⁺ como agente oxidante llega a ser más importante que el del O₂. A pH más bajos (<3), el Fe³⁺ oxida a la piritita más rápidamente de lo que el oxígeno oxida al Fe²⁺. Como resultado, la piritita reducirá todo el Fe³⁺ y la reacción se detendrá. Por consiguiente, la oxidación del Fe²⁺ al Fe³⁺ representa el **factor limitante** en la producción del drenaje ácido de las minas:



En la naturaleza, estas reacciones son extremadamente lentas. Sin embargo, las bacterias acidófilas, como *A. ferrooxidans* o *L. ferrooxidans*, son capaces de catalizar la reacción de oxidación en un proceso que genera energía. Esto da lugar a que la velocidad de oxidación del Fe²⁺ por las bacterias sea alrededor de un millón de veces mayor que la oxidación de la piritita por procesos abióticos. El Fe³⁺ formado en estas condiciones, siendo soluble, puede fácilmente reaccionar con más piritita. Por consiguiente, hay un incremento progresivo de la velocidad de oxidación de la piritita, llamado **ciclo de propagación** (Pearce *et al.*, 2016).

Por otra parte, la oxidación bacteriana de la piritita (FeS₂) genera tiosulfato (S₂O₃²⁻):



El tiosulfato (o azufre elemental) puede ser oxidado por bacterias como *A. ferrooxidans* o *T. thiooxidans*, generando ácido sulfúrico:



Es decir, la exposición de las pirititas a la atmósfera (oxígeno y agua) conduce a una acidificación extrema de las aguas de drenaje, que a su vez son el medio de transporte de iones férricos y otros metales (Cu, Zn, Mn, etc.) solubles a pH ácidos (Schippers y Sand, 1999; Rohwerder *et al.*, 2003). Una variedad de estudios describen con detalle los componentes y la cinética de la oxidación del hierro y de los sulfuros mientras se observa, mediante SEM, que las pirititas se van erosionando (Valdés *et al.*, 2008; Kocaman *et al.*, 2016; Tu *et al.*, 2017). Es interesante el hecho de que bajo condiciones ácidas el Fe(II) proporciona una excelente oportunidad a los microorganismos acidófilos, tanto como donador de electrones como fuente de energía, lo que los diferencia de aquéllos que viven en ambientes neutros (Mishra *et al.*, 2015).

¹ <https://www.iaph.es/patrimonio-inmueble-andalucia/resumen.do?id=i23518>



[4]

Acidithiobacillus ferrooxidans como modelo de bacteria quimioautolitotrófica

A. ferrooxidans (antes llamado *Tiobacillus ferrooxidans*) es el principal responsable del drenaje ácido de rocas y de minas en los ambientes piríticos. Puede oxidar tanto hierro como azufre. Dadas sus características es también la especie más utilizada en procesos de recuperación de metales de interés agrupados bajo la denominación de Biominería o Biometalurgia (OECD, 2006). *A. ferrooxidans* es una γ -proteobacteria. Se trata de un bacilo gram negativo que se reproduce comúnmente mediante fisión binaria. Además es una especie hiperacidófila y tolerante a la contaminación por metales pesados, capaz de vivir en un medio con valores de pH entre 1,5 y 2,5. Se trata de una bacteria mesófila, que vive a temperaturas entre 20 y 35 °C. Puede ser aerobia (utiliza el oxígeno como aceptor de electrones) y anaerobia facultativa (utiliza el ión férrico como aceptor). Desde un punto de vista metabólico se trata de una bacteria quimiolitotrofa: utiliza hierro y azufre como fuente de poder reductor y de energía con los que puede fijar el CO₂ para generar materia orgánica. Además, es una bacteria diazotrófica capaz de fijar el N₂ del aire (Valdés *et al.*, 2008; Esparza *et al.*, 2010).

En el laboratorio se suele cultivar en medio líquido a pH \approx 2, en matraces situados en un agitador orbital en medio líquido, el llamado medio 9K de Silverman y Lundgren (1959) constituido exclusivamente por sales inorgánicas, o en medio tiosulfato a pH \approx 4 [TABLA 01-1], al cual se le añade un inóculo procedente de ríos ácidos del entorno, especies aisladas de dichos medios o especies adquiridas en colecciones comerciales de bacterias. El medio debe suplementarse con una fuente de Fe(II), necesario para el crecimiento de las bacterias. También es posible cultivar *A. ferrooxidans* y otras bacterias similares en medio sólido, aunque estos cultivos presentan numerosos problemas por dificultades de gelificación a pH ácido (Starosvetsky *et al.*, 2013).

TABLA
01-1

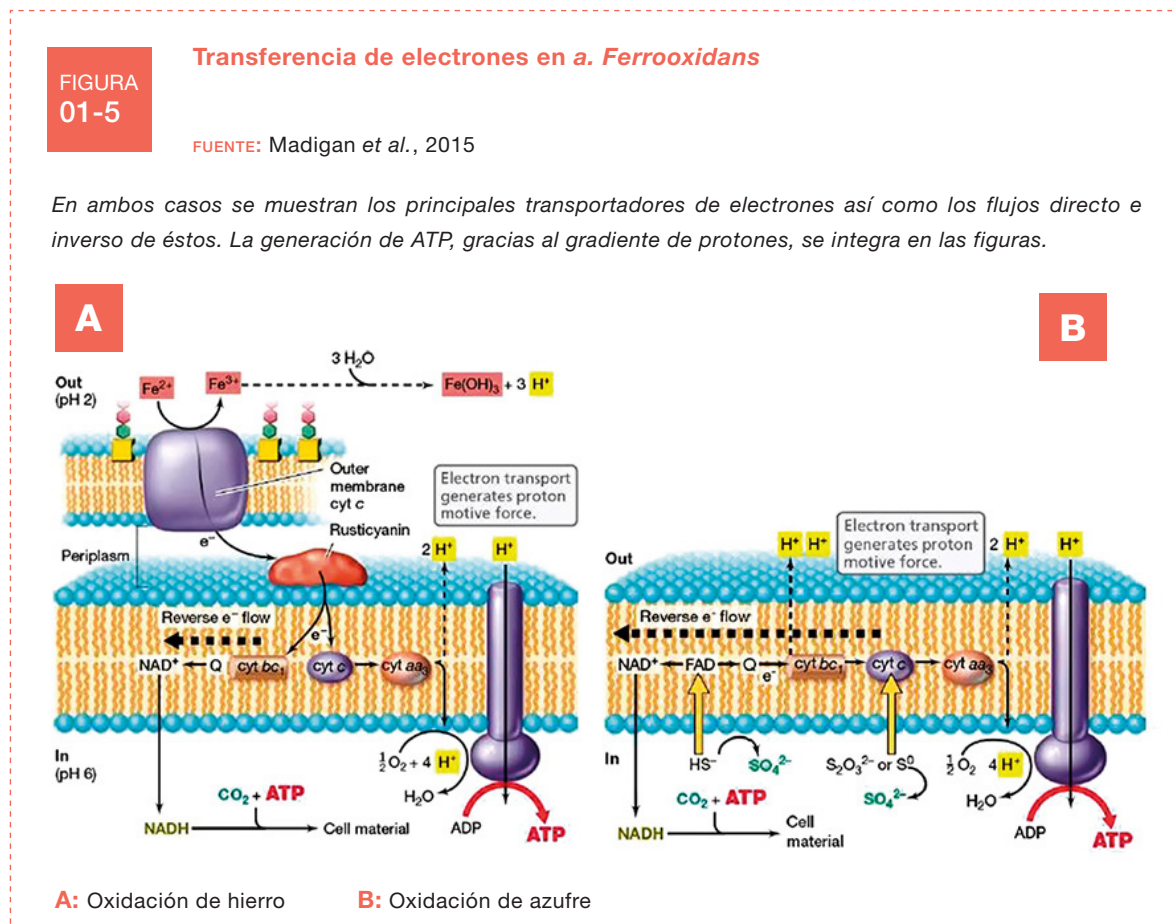
Composición de los medios usados habitualmente para cultivar *A. Ferrooxidans* y otras bacterias quimiolitotrofas oxidantes de sulfuro y/o hierro.

Llevar hasta 1 l con agua destilada. Ajustar pH con H₂SO₄

Medio a pH 1,5-2,5		Medio a pH 4-4,5	
KH ₂ PO ₄	0,5 g	KH ₂ PO ₄	3 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5 g	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	3 g	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,4 g
KCl	0,1 g	Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	5 g
Ca(NO ₃) ₂	0,01 g	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,25 g
FeSO ₄ x 7H ₂ O	24-48 g	FeSO ₄ x 7H ₂ O	0,01 g



El mecanismo de oxidación del hierro [FIGURA 01-5A] comienza en la membrana externa donde el Fe(II) es oxidado a Fe(III) mediante un citocromo que transfiere los electrones al espacio periplásmico, donde los electrones son transferidos desde la rusticianina (una cuproproteína) hacia una cadena de transportadores de la membrana interna. En esa localización se produce un flujo de electrones hacia una citocromo c-oxidasa que reduce el O_2 a H_2O o, mediante un flujo inverso, se transfieren los electrones hacia una cadena de citocromo bc1-quinona-deshidrogenasa que genera NADH como fuente de poder reductor requerido para la reducción de CO_2 mediante el ciclo de Calvin (similar al usado por los organismos fotosintéticos para fijar carbono). Dada la existencia de un poderoso gradiente de protones (recuérdese que el medio tiene un pH en torno a 2, mientras que el espacio intracelular tiene un valor de pH de aproximadamente 6), una ATPasa de la membrana interna cataliza la síntesis de ATP, que se utilizará como fuente de energía para diversos procesos anabólicos. Obsérvese que el hierro se oxida extracelularmente y que su combinación con agua generará oxihidróxidos de hierro y se acidificará el medio.



La ruta de oxidación del azufre [FIGURA 01-5B] es más complicada que la del hierro, ya que intervienen varios transportadores de electrones y una variedad de enzimas (sulfuro-quinona oxidorreductasa, tetrationato hidrolasa, tiosulfato-quinona oxidorreductasa, sulfito oxidasa, etc.) no mostradas en la



figura. En todo caso, y como en el caso anterior, la oxidación de los compuestos reducidos de azufre produce diversos intermediarios (S^0 y SnO_6^{2-}) y permitirá la reducción del oxígeno hasta agua y la generación de NADH. Simultáneamente, y como en el caso anterior, el ATP se sintetizará gracias a la fuerza protón-motriz derivada del gradiente electroquímico generado en un medio tan ácido como el hábitat de estas bacterias (Valdés *et al.*, 2008; Stahl *et al.*, 2015).

Diversos análisis moleculares destacan el papel de agrupaciones o *clusters* de genes que codifican la síntesis de diversas proteínas y enzimas ligadas al ciclo de Calvin-Benson-Bassham (de ahí que se denomine a esas agrupaciones como CBB). Se trata de operones vinculados al gen regulador CbbR, que regula en muchos organismos la expresión de los genes de la RuBisCO, una enzima esencial para la fijación de carbono en organismos fotosintéticos así como para explicar la fotorrespiración (Valdés *et al.*, 2008; Esparza *et al.*, 2010).

La fijación de N_2 también es posible en *A. ferrooxidans* y *L. ferrooxidans* (Mackintosh, 1978; Pretorius *et al.*, 1987; Norris *et al.*, 1995). Esta representa una prueba más de la versatilidad metabólica de estas bacterias por cuanto en presencia de oxígeno, el nitrógeno es incorporado a partir de sales de amonio, pero las bacterias contienen toda la batería necesaria de genes *nif* para fijar el nitrógeno atmosférico cuando la concentración de oxígeno es limitada. Se trata por tanto de un mecanismo adaptativo cuando la fuente de nitrógeno reducido es limitante; naturalmente la bacteria modificará para ello varios aspectos de su metabolismo y los mecanismos de regulación de la expresión génica que alterarán las vías de producción de energía y la pared celular entre otros.

Una prueba más de versatilidad metabólica de *A. ferrooxidans* es su capacidad para crecer en condiciones anaerobias usando H_2/Fe^{3+} , H_2/S^0 , o S^0/Fe^{3+} . El hidrógeno y el azufre actuarían como donadores de electrones y el hierro oxidado como aceptor de electrones, lo que define un típico proceso de respiración anaerobia. Para ello, la bacteria utiliza citocromos tipo *bc1* y tipo tipo *c*, que transfiere los electrones al Fe^{3+} reduciéndolo a Fe^{2+} . La respiración anaerobia en *A. ferrooxidans* puede representar un mecanismo relevante para el reciclado de Fe^{3+}/Fe^{2+} así como para comprender los procesos de biolixiviación de los sulfuros metálicos en el medio natural, donde se definen distintos ambientes nutricionales y gradientes aerobios/anaerobios (Osorio *et al.*, 2013; Kucera *et al.*, 2016).

A modo de resumen de esta versatilidad génica y metabólica de *A. ferrooxidans*, la fig. C-6 (Valdés *et al.*, 2008) muestra el complejo entramado de proteínas en la membrana de la bacteria y una variedad de rutas metabólicas en su citoplasma. Al respecto, se destacan los complejos que definen la oxidación de hierro y de azufre, los implicados en la fijación de CO_2 y de N_2 , los genes de resistencia a metales pesados y la maquinaria de síntesis de los polímeros extracelulares (EPS).

La biolixiviación de sulfuros metálicos por *A. ferrooxidans* y bacterias similares que explican el drenaje ácido, con o sin intervención humana, requiere que las bacterias acidófilas interactúen con las piritas *in situ*. Para ello, las bacterias generan sustancias poliméricas extracelulares (exopolisacáridos, EPS) que permiten la adherencia del microorganismo al sustrato sólido y crean un ambiente óptimo para su crecimiento mediante la fijación de CO_2 y de N_2 (si las sales de amonio son limitantes) asociadas a la oxidación de los sulfuros metálicos. De hecho, en el medio extracelular de *A. ferrooxidans* hay varias proteínas con abundantes grupos tioles directamente implicadas en la activación de los sulfuros previamente a su oxidación (Zhang *et al.*, 2008; Chandraprabha y Natarajan, 2013). La estructura molecular y las propiedades de la EPS de las bacterias hiperacidófilas apenas se conoce (Wang *et al.*, 2019) aunque



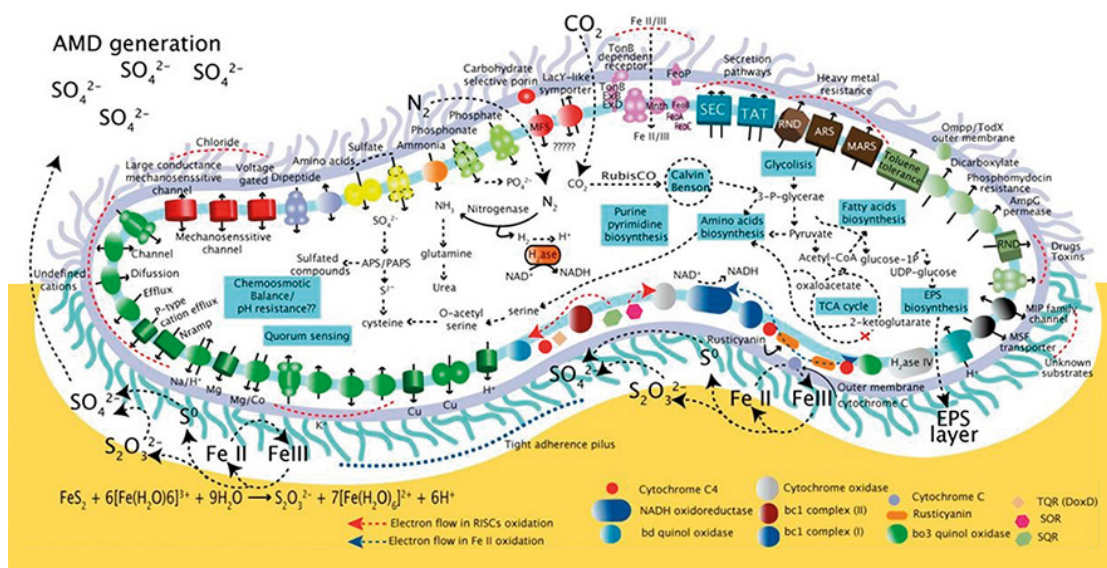
el hecho de que el incremento de temperatura disminuya la síntesis de EPS y concomitantemente la eficacia de la biolixiviación sugiere que esta capa extracelular es en primer lugar un elemento protector frente a las condiciones ambientales extremas. Por otra parte, en el medio natural, los componentes extracelulares poliméricos se generan por los cultivos mixtos representados por los consorcios bacterianos que formarían biofilms en torno a las fuentes de sulfuro y de hierro(II) (Zhu *et al.*, 2012).

FIGURA 01-6

Modelo global del metabolismo celular de *A. Ferrooxidans*

FUENTE: Valdés *et al.*, 2008

Se muestran los componentes quimiolitotrofos (oxidación de azufre e hierro) que explican la generación de AMD, los mecanismos de incorporación de CO₂ y de N₂, los genes de resistencia a metales pesados, y los implicados en la síntesis de polímeros extracelulares (EPS)



En estas condiciones, los microorganismos pueden atacar la red cristalina de los sulfuros a través de la oxidación enzimática por transporte de electrones desde la parte reducida del mineral al oxígeno disuelto al ponerse en contacto con el sustrato (**mecanismo directo**). Sin embargo, parece ser que este mecanismo se conjuga con un **mecanismo indirecto** (probablemente más importante para explicar la biolixiviación de sulfuros metálicos) donde el Fe³⁺ generado por oxidación de las piritas provoca cambios en el potencial redox del medio de tal forma que los microbios sésiles juegan un papel limitado en la oxidación de la piritita en medios con potencial redox inferior a 650 mV (Liu *et al.*, 2017).

Aunque existen controversias sobre la participación real en el medio de mecanismos directos e indirectos (Mishra y Rhee, 2014), cada vez más datos apoyan el llamado mecanismo indirecto, es decir, la capacidad



de las bacterias quimiolitotrofas oxidantes de hierro y azufre para generar un potencial redox muy oxidante que generaría Fe^{3+} en solución y éste atacaría químicamente a los sulfuros metálicos [FIGURA 01-7]. No obstante, es factible la existencia de un mecanismo denominado **por contacto** o de **cooperación metabólica**, similar desde un punto de vista catalítico al indirecto (por cuanto el Fe^{3+} del medio es el agente oxidante) pero donde la bacteria se adhiere al mineral reducido mediante adhesión a través de la capa de EPS. Sería en esa capa donde la oxidación tiene lugar (Sand y Gehrke, 2006). Además, la capa extracelular sería un medio de adhesión de diferentes especies bacterianas –oxidantes de hierro y oxidantes de sulfuro– que cooperarían metabólicamente durante los procesos de oxidación y lixiviación de los sulfuros metálicos. Además otras bacterias no adheridas al mineral intervendrían en el proceso produciendo más iones férricos, protones e intermediarios de la oxidación de los sulfuros (Vera *et al.*, 2013; Mahmoud *et al.*, 2017) [FIG. 01-7, ABAJO].

[5]

Aplicaciones: La biominería y la biometalurgia

En las páginas precedentes se constata que las bacterias más abundantes en los ríos afectados por los drenajes ácidos de mina en la provincia de Huelva son a su vez las máximas responsables de su extraordinaria magnitud. Estas bacterias han realizado una actividad continua, desde hace millones de años, de oxidación y lixiviación de los materiales incluidos en la faja pirítica, si bien la intensa actividad minera iniciada a mediados del siglo XIX ha elevado los niveles de transporte y deposición de metales pesados hasta cantidades dramáticas. Las bacterias quimiolitotrofas de los ríos ácidos responden así al importante aporte de nutrientes generado por la industria minera que se puede explicar por: (a) el aumento de la superficie de contacto de las piritas expuesta a condiciones oxidantes debido a la exposición al aire y agua, (b) la acumulación al aire libre de escombros y monteras de gossan expuestas a las condiciones climáticas (c) el perforado de pozos y galerías a través de los cuales el oxígeno atmosférico puede circular, (d) el bombeo continuo para reducir el nivel freático y (e) la generación de grandes cantidades de residuos metalúrgicos. En resumen, la actividad minera condujo a un elevado aporte de nutrientes para las bacterias oxidantes de azufre y de hierro, y el resultado de su actividad fue la acidificación de las aguas de drenaje y el transporte de una variedad de metales (favorecido por el pH bajo que aumenta su solubilización) hasta el estuario que conforman los ríos Tinto y Odiel junto a la capital de Huelva. La magnitud de este transporte queda reflejada por los datos que aportan Nieto *et al.* (2007) que señalan los siguientes valores (expresados en toneladas/año) que alcanzan el estuario: Fe, 7.900; Al, 5.800; Zn, 3.500; Cu, 1.700; Mn: 1.600, etc. Los autores destacan un dato que resulta dramático: a escala global, el 37% del zinc y el 15% del cobre disueltos que alcanza los océanos es transportado por los ríos Tinto y Odiel desde la cuenca minera de Huelva. Estos números, sorprendentes, nos deben hacer reflexionar acerca de la importancia de los microorganismos de las aguas ácidas de Huelva que con una “dieta” realmente pobre (S^{2-} , Fe^{2+} , O_2 , CO_2 , N_2 , agua y diversos iones), y a lo largo de millones de años de actividad metabólica son los responsables de la transformación y movilización de ingentes cantidades de metales desde su localización en la faja pirítica del Andévalo onubense hasta el océano.

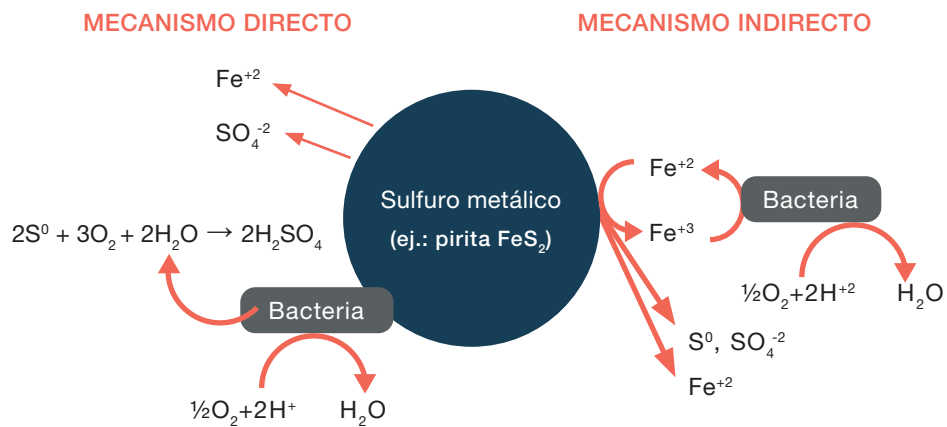


FIGURA 01-7

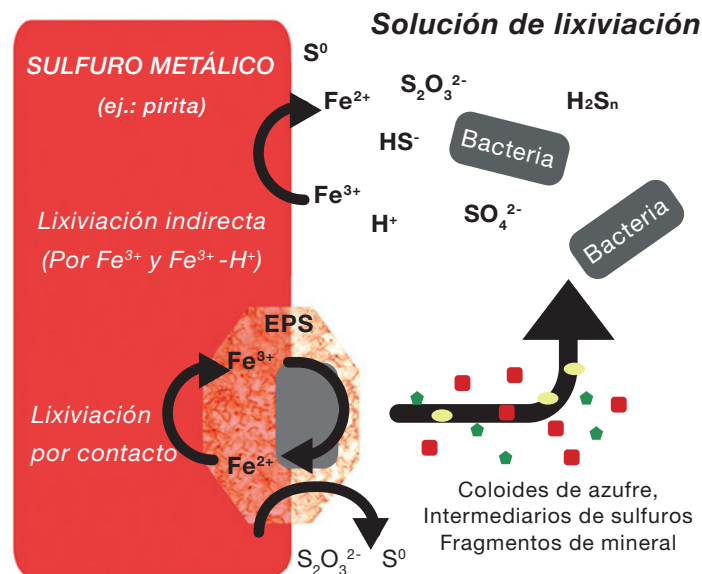
Mecanismos de biolixiviación directo e indirecto y por contacto/cooperación de *A. Ferrooxidans* y otras bacterias

FUENTE: Basado en Mishra y Rhee, 2014 y Mahmoud et al., 2017, con modificaciones.

En el mecanismo directo, la bacteria oxida los sulfuros metálicos por contacto físico; en el mecanismo indirecto, la bacteria oxida hierro del medio generando Fe^{3+} que oxida al mineral. En el mecanismo por contacto/cooperación hay fases de oxidación que se desarrollan en el seno la matriz extracelular de biofilms bacterianos y fases de cooperación metabólica de diversas bacterias planctónicas que conducen a un mecanismo de lixiviación indirecto.



MECANISMO POR CONTACTO Y COOPERACIÓN METABÓLICA





Sin embargo, y aunque pueda resultar paradójico, el uso controlado de estas bacterias puede reducir el impacto ambiental de la minería y metalurgia de piritas, ser eficaz en su rendimiento incluso económicamente rentable. Nos referimos a la Biominería y a la Biometalurgia. En ambos casos se utiliza el potencial de las bacterias para recuperar metales de interés, o para remediar el impacto ambiental de su acumulación. Concretamente, por Biominería se entiende el conjunto de procesos microbiológicos que se utilizan para obtener metales de interés comercial a partir de los minerales que los contienen. La actividad de las bacterias se explica por dos procesos metabólicos: **la biooxidación** o conjunto de reacciones catalizadas enzimáticamente que transforman compuestos reducidos en productos oxidados y **la biolixiviación**, o solubilización de materiales insolubles como consecuencia de la actividad microbiológica. La Biominería es de particular interés cuando se aplica a menas de baja ley o a residuos de actividades mineras (Gang *et al.*, 2017; Johnson, 2018; Katsonen *et al.*, 2018; Pollmann *et al.*, 2018). Por ejemplo, Panda *et al.* (2015) recuerdan que el 20–25% de la producción total de cobre en el mundo se realiza a través de procesos hidrometalúrgicos (biolixiviado-extracción-electrolisis). La lista de empresas biomineras y biometalúrgicas que están actualmente en funcionamiento en el mundo es de alrededor de cincuenta (Banerjee *et al.*, 2017).

Las ventajas de la biominería respecto a la minería tradicional pueden ser resumidas en los siguientes aspectos:

- | **La biolixiviación** es un proceso económico y simple. |
- | **El efluente generado en la biolixiviación** es respetuoso con el medio ambiente y no genera una amenaza para éste. |
- | **Es un proceso** con un consumo de energético reducido en gran medida debido a que no requiere condiciones de alta presión y temperatura. |
- | **El proceso de biolixiviación** es capaz de tratar menas de baja ley. |
- | **El proceso de biolixiviación** es específico para cada región y puede emplear microorganismos indígenas. |
- | **El crecimiento en gran escala de los microorganismos** es posible con los últimos avances en este campo de investigación. |
- | **La biolixiviación** no requiere unas instalaciones tecnológicamente avanzadas. |
- | **El desarrollo de pruebas de biolixiviación** en biorreactores o montículos de material es sencillo. |
- | **El coste económico** de una planta de biolixiviación es mínimo comparado con el coste de una planta tradicional. |

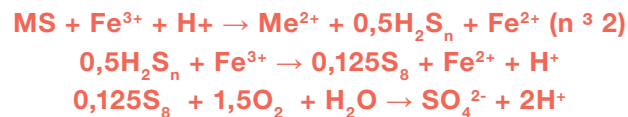


La capacidad biolixiviadora de las bacterias acidófilas depende del sulfuro metálico con el que interactúan, ya que su oxidación procede a través de diferentes intermediarios. Se ha propuesto un mecanismo que implica al tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) para la oxidación de sulfuros metálicos insolubles en medio ácido, como la pirita (FeS_2) o molibdenita (MoS_2), y un proceso que implica a polisulfuros para sulfuros metálicos solubles en medio ácido, como la esfalerita (ZnS), calcopirita (Cu_2S) o galena (PbS) (Rawlings *et al.*, 2003).

En el primer caso se produce un ataque por el ion férrico:



En el segundo caso, el ataque se debe al ataque combinado de ion férrico y de protones, siendo el azufre elemental el principal intermediario el cual, aunque siendo relativamente estable, puede ser oxidado a sulfato por bacterias que oxidan sulfuros:



Existen dos tecnologías básicas que se usan en biominería: la de pila y la de vertedero o pendiente donde el mineral se acumula al aire libre y se irriga con una solución ácida que contiene bacterias biolixiviadoras; y la de tanque, donde una suspensión de mineral finamente triturado se coloca en un recipiente bajo agitación y aireación permanente [FIGURA 01-8] (Rawlings *et al.*, 2003; Pradhan *et al.*, 2008; Mahmoud *et al.*, 2017).

Las aplicaciones comerciales de la biominería son una realidad, sobre todo para la metalurgia del cobre (por ejemplo, a partir de calcopirita de bajo grado) y para la extracción de oro (especialmente en menas de baja ley). En ambos casos existen numerosas industrias en funcionamiento desde los años 80 del pasado siglo que utilizan sistemas de biolixiviado en pila o en tanque (Rawlings *et al.*, 2003; Brierley y Brierley, 2013), aunque sus posibilidades se han extendido a la obtención de otros metales, sea por razones productivas, sea por razones de descontaminación de residuos. En este sentido, las aplicaciones de tecnologías de base bacteriana tienen también el objetivo de eliminar metales tóxicos contenidos en una variedad de residuos de origen industrial. Al respecto, se utilizan técnicas de biolixiviado para recuperar metales de residuos mineros o de minas abandonadas; en los países más industrializados se optimizan procesos de biolixiviación para recuperar metales de residuos electrónicos; se aplican con éxito procesos biometalúrgicos de recuperación a partir de las cenizas derivadas de la incineración de residuos urbanos; el níquel y cobalto, además de otros metales, se está recuperando mediante biolixiviación; incluso metales “raros” como vanadio o radionúclidos pueden ser movilizados por acción bacteriana. Y en muchos casos se usa la especie más abundante en los ríos ácidos de Huelva: *Acidithiobacillus ferrooxidans* [TABLA 01-2] (Fonti *et al.*, 2016; Pollman *et al.*, 2018).

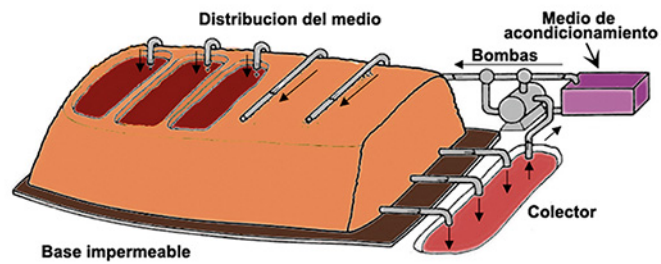


FIGURA
01-8

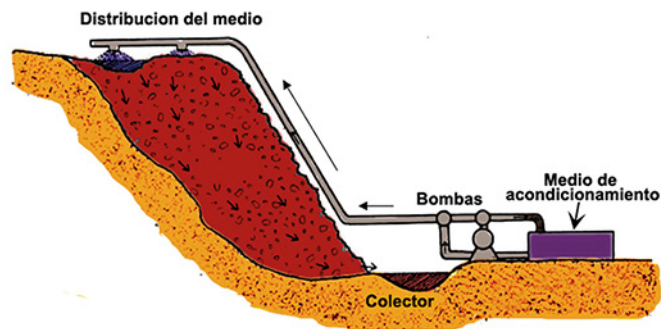
Biominería: tecnologías de lixiviación

FUENTE: Basado en <http://www.spaceship-earth.org/rem/naeveke.htm> y Mahmoud et al., 2017.

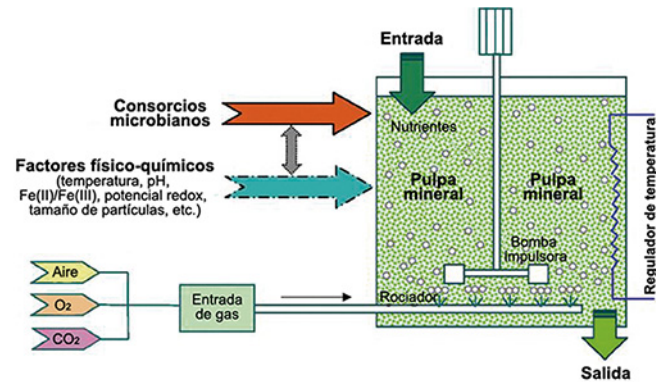
A



B



C



A: Biolixiviación en pila

B: Biolixiviación en pendiente

C: Biolixiviación en tanque



TABLA
01-2

Aplicaciones de microorganismos en la recuperación de metales de diversos residuos

FUENTE: Bharadwaj y Ting, 2011

RESIDUO	METAL LIXIVIADO	MICROORGANISMOS
Catalizadores	Al, V, Mo, Ni, Co, Li	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> <i>Aspergillus niger</i> ¹ <i>Penicillium simplicissimum</i> ¹
Chatarra electrónica	Al, Cu, Ni, Pb, Sn, Zn, Au	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> <i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> <i>Aspergillus niger</i> ¹ <i>Penicillium simplicissimum</i> ¹ <i>Cromobacterium violaceum</i> ² <i>Sulfobacillus thermosulfidooxidans</i> ³
Residuos sólidos urbanos. Cenizas de incineración	Al, Fe, Mn, Ni, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> <i>Pseudomonas putida</i> ⁴ <i>Bacillus megaterium</i> ⁵ <i>Aspergillus niger</i> ¹ <i>Acidianus brierleyi</i> ⁶
Pilas y baterías	Li, Co	<i>Acidithiobacillus spp.</i>
Filtros sólidos	Cu	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>
Lodos de aguas residuales	Cu, Mn, Zn, Ni, Cd, Cr, Pb	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>
Lodos de curtiduría	Cr	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>
Residuos de joyería/ Catalizadores de automóviles	Ag, Pt, Au	<i>Cromobacterium violaceum</i> ² <i>Pseudomonas fluorescens</i> ⁴

1: Hongos

2: Bacteria anaerobia facultativa heterótrofa

3: Bacteria termófila oxidante de azufre

4: Bacterias saprófita del suelo

5: Bacteria del suelo y endófito

6: Archea acidófila y termófila, oxidante/reductora de azufre

En el caso particular de los drenajes ácidos de mina, con altos contenidos de metales pesados, su exceso puede ser mitigado aplicando tecnologías donde se asocian una variedad de procesos microbiológicos, que hacen uso de bacterias específicas, que realizan procesos de biosorción, es decir de fijación del metal a la pared celular; de bioacumulación en el interior de la bacteria; o de bioprecipita-



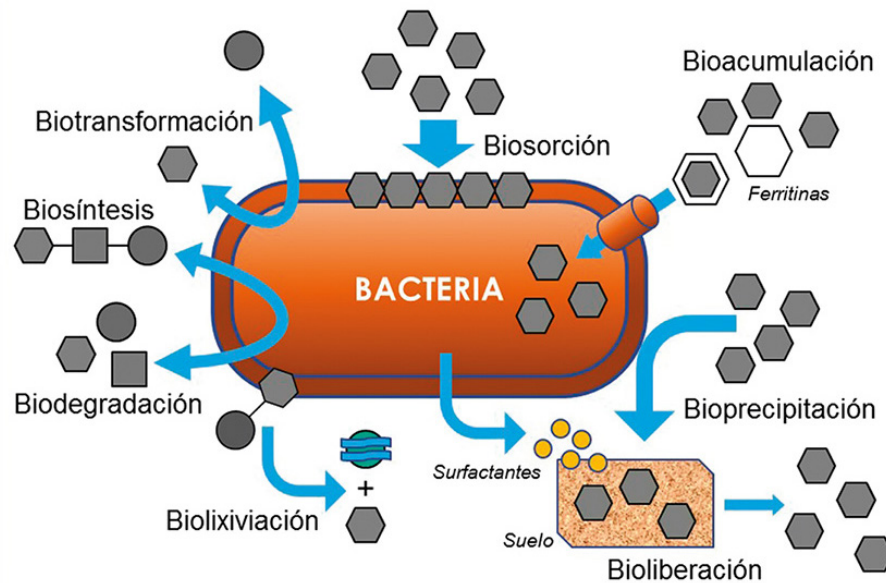
ción como la que realizan la bacterias reductoras de sulfato en ambientes anaerobios y en presencia de materia orgánica [FIGURA 01-9] (Bharadwaj y Ting, 2011; Jerez, 2017).

FIGURA
01-9

Mecanismos de interacción de las bacterias con los metales

FUENTE: Producción propia

Las figuras grises representan compuestos metálicos. La biosorción consiste en la fijación de los metales en la pared celular. La bioacumulación permite el transporte y acumulación de metales en el interior de la bacteria (las ferritinas –hexágonos vacíos– son moléculas quelantes de hierro). La bioprecipitación se produce por reducción de moléculas oxidadas. La bioliberación y solubilización consiguiente se debe a la actuación de sustancias surfactantes. La biolixiviación es el resultado de un proceso de oxidación que genera moléculas solubles. La biodegradación es un tipo de reacción que libera componentes de compuestos metálicos; el proceso opuesto se denomina biosíntesis. Por último, la biotransformación es el resultado de una o más reacciones redox que modifican el compuesto metálico original.



Por otra parte, la eficacia de las bacterias en procesos biotecnológicos puede ser mejorada aplicando técnicas de manipulación genética y de metagenómica o crear librerías de expresión génica para identificar actividades enzimáticas específicas de aplicación en las bioindustrias. Por ejemplo, se han transferido horizontalmente genes de resistencia a arsénico a bacterias tales como *A. caldus* y *L. ferrophilum*, con el resultado de una elevada resistencia al arsénico en biorreactores que permiten recuperar oro contenido en arsenopiritas (Dumbar 2017). Hay varias razones debidas a las cualidades singulares del genoma de las bacterias extremófilas que oxidan sulfuros metálicos. Una de ellas es su extraordinaria tolerancia a concentraciones muy elevadas de metales pesados. Por ejemplo, y para el caso del cobre, las bacterias más



abundantes en los ríos ácidos de Huelva, *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, son capaces de tolerar hasta 800 y 393 mM de cobre, respectivamente, antes de inhibir su crecimiento. Para ello desarrollan determinados mecanismos de resistencia que incluye la presencia de genes específicos de tolerancia, chaperones de cobre, sistemas muy eficaces de defensa frente al estrés oxidativo o polímeros de polifosfato inorgánico que actúan secuestrando los cationes de cobre (Orell *et al.*, 2010).

[6]

Experimentando con consorcios bacterianos en procesos biometalúrgicos

A pesar de las posibilidades de las bacterias quimiolitotrofas de los ríos ácidos de Huelva en estudios de recuperación de metales de residuos industriales, sorprende que no haya registros de aplicaciones en biominería o biometalurgia al respecto, a pesar de ser tecnologías ampliamente usadas en el mundo (Johnson, 2018; Sasson y Malpica, 2018). Como en todo proceso de investigación que trata de resolver un problema, en primer lugar hay que definir el problema: ¿en qué consiste?; seguidamente se plantea un objetivo: ¿qué se pretende conseguir?; y después se diseña un procedimiento para tratar alcanzar el objetivo: ¿cómo puede hacerse?

FIGURA
01-10

Escorias del procesado pirometalúrgico de minerales de cobre

FOTOGRAFÍA: F. Córdoba





Como residuo del procedimiento pirometalúrgico que permite la obtención de cobre metálico a partir de concentrados minerales de cobre se producen unas escorias [FIGURA 01-10], producto de la fusión de los concentrados formadas por fundamentalmente por fayalita (silicato de hierro, $(\text{Fe}^{2+})_2\text{SiO}_4$) y magnetita (óxido ferroso-férrico, $\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}2\text{O}_4$) que aún incluyen restos de sulfuros metálicos (mata) (Gorai *et al.*, 2003). Aunque la cantidad de metales, como cobre, incluida en las escorias puede ser significativa, las dificultades de su extracción por métodos tradicionales le restan interés por su baja rentabilidad. Dado que a escala mundial se producen alrededor de 24,6 millones de toneladas de escoria anualmente (Gorai *et al.*, 2003), en los últimos años se ha prestado una mayor atención a una gestión sostenible que estimulen la investigación para la reutilización de residuos (Potysz *et al.*, 2015). Frecuentemente, las escorias son almacenadas en vertederos autorizados bajo el criterio de que son un pasivo ambiental, pero es habitual que se destinen para fabricar hormigón y cementos, además de otras aplicaciones (Dey *et al.*, 2014; Nataraja *et al.*, 2014).

Sin embargo, las escorias pueden representar un problema ambiental dado que lentamente se puede producir un biolixiviado de las mismas y una liberación al medio de los metales que contienen (Harish *et al.*, 2011). Por consiguiente, la actividad de los microbios responsables del lixiviado de metales, un proceso de biometeorización, podrías contribuir a una movilización de metales potencialmente tóxicos (Potysz *et al.*, 2015).

Si tratar de mitigar un problema ambiental ya es por sí mismo un objetivo encomiable, la recuperación de metales de las escorias representaría además una posibilidad de rentabilidad comercial y se ajustaría al objetivo, que anteriormente hemos mencionado, de reciclar materiales industriales mediante su procesado por bacterias u otros microorganismos. Al respecto, Yang *et al.* (2010) proponen biolixiviados selectivos para recuperar el cobre de las escorias de fundición, un papel que podrían desempeñar los consorcios bacterianos típicos de las aguas ácidas de los ríos de Huelva.

Por ello, la primera fase para alcanzar el objetivo previsto (recuperar cobre de las escorias) consiste en recolectar consorcios bacterianos de aguas ácidas superficiales donde abundan las bacterias que oxidan hierro [FIGURA 01-11], ya que las comunidades bacterianas, preferiblemente nativas, suelen ser más eficaces que las especies individuales para realizar procesos de oxidación y lixiviación sobre materiales también locales (Bryan, 2011; Latorre *et al.*, 2016). Los muestreos deben ser realizados en diferentes localizaciones ya que la proporción de las poblaciones microbianas puede ser diferente así como su eficacia biolixivadora.

Las muestras se trasladan al laboratorio donde son inoculadas en una medio de cultivo que contiene nutrientes inorgánicos y, en particular, una fuente de hierro reducido (Silverman y Lundgren, 1959). Tras unos días de cultivo con agitación permanente, para oxigenar adecuadamente la muestra, y a unos 30°C, la actividad metabólica de las bacterias será conspicua porque el medio adquirirá un fuerte color rojo [FIGURA 01-12].

La presencia de bacterias en el medio y su crecimiento deben ser constatados mediante análisis microscópico y cultivos en medios selectivos [FIGURA 01-13]. Esta fase representa un periodo de adaptación de las bacterias, conveniente antes de exponer el material de ensayo, en este caso las escorias, a su actividad (Panda *et al.*, 2015; Kaksonen *et al.*, 2018). La adaptación se puede ser realizar mediante cultivos sucesivos donde cada cultivo proporciona el inóculo para el subsiguiente. Durante este periodo de adaptación se comprueban parámetros tales como el pH, conductividad y concentración de $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, además del crecimiento bacteriano.



FIGURA
01-11

Recolectando bacterias acidófilas

FOTOGRAFÍA: F. Córdoba

A la izquierda: en el río Tinto, junto al Embalse de las Marismillas;
a la derecha, en la ribera de Agustín, cerca de Alosno.

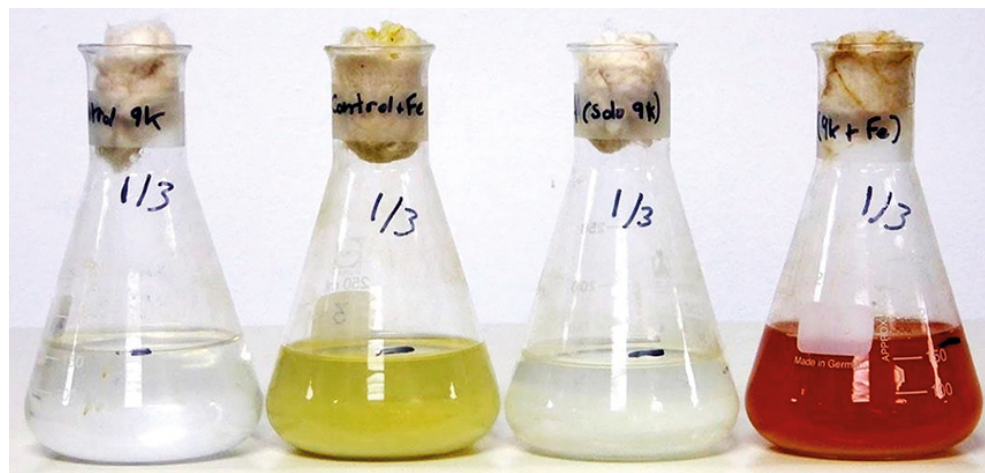


FIGURA
01-12

Cultivos de bacterias acidófilas en medio 9k suplementado con hierro

FOTOGRAFÍA: F. Córdoba / P. Borrego

Los cultivos se realizaron durante 5 días, a 30°C en agitador orbital (100 rpm). El inóculo procede de las aguas ácidas (pH 2,0) de la ribera de Agustín (Huelva).



Medio 9K

Medio 9K + Fe(II)

Medio 9K +
inóculo

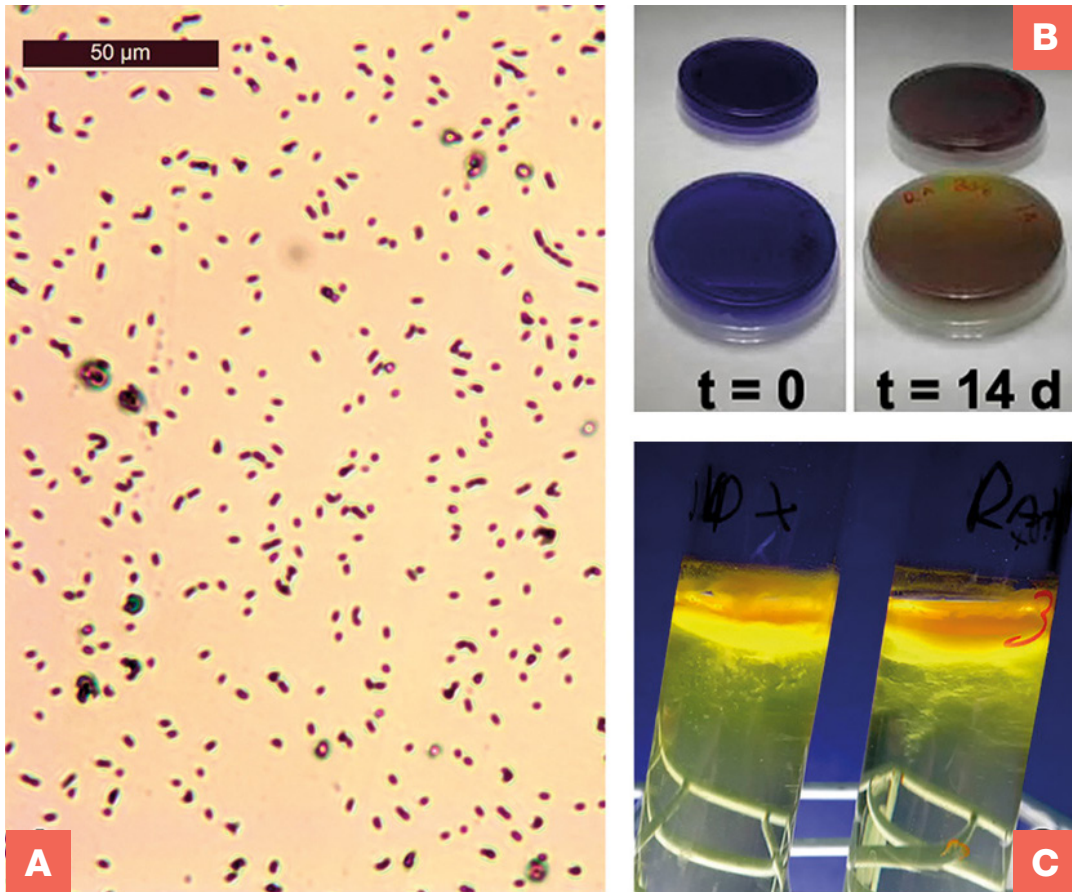
Medio 9K + Fe(II) +
inóculo



FIGURA
01-13

Demostración de la presencia de bacterias aerobias acidófilas en los medios de cultivo

FOTOGRAFÍA: F. Córdoba / P. Borrego



- A:** bacterias teñidas mediante el método de Gram bajo el microscopio
- B:** cultivos en medio para bacterias acidófilas con un indicador de pH: tras 14 días de incubación el cambio de color es conspicuo.
- C:** cultivo en medio Glicolato: sólo se observan bacterias aerobias; la fluorescencia se debe a la presencia de Resazurina en el medio.

Transcurrido el periodo de adaptación, se realiza un nuevo cultivo donde al medio (sin hierro) se le añaden las escorias (como única fuente de hierro) y potestativamente azufre, dado que los consorcios bacterianos hiperacidófilos contienen especies que oxidan azufre y colaboran metabólicamente con las que oxidan hierro. Naturalmente hay que mantener rigurosos controles, especialmente sobre la evolución de las escorias en ausencia de bacterias, lo cual se consigue mediante filtración en condiciones estériles del inóculo.



A continuación se muestran los resultados preliminares de la biolixiviación de escorias de cobre tras un periodo de 14-28 días de cultivo en las condiciones descritas. Los datos que se muestran se corresponden a trabajos, aún en curso de realización, de Pedro Borrego y de quien firma este capítulo.

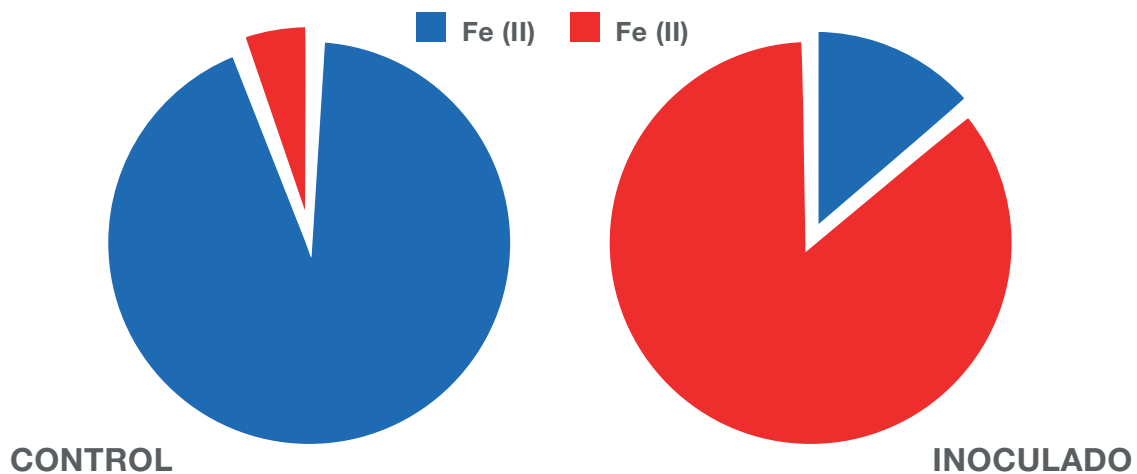
Tras un periodo de 18 días de incubación a 30°C y con un pH inicial de 2,5, se registraron unos cambios notables en el medio de cultivo y en las propias escorias. En primer lugar, el valor de pH descendió, como cabe esperar durante el proceso de oxidación catalizado por bacterias quimiolitotrofas. Simultáneamente la conductividad aumentó a medida que se va produciendo la lixiviación. Y el potencial redox se hizo más oxidante, al ir oxidándose el hierro. Entretanto el cobre y el hierro, procedente de las escorias, aumentaron su concentración en el medio de cultivo. Es notable el extraordinario cambio de la proporción el Fe^{2+}/Fe^{3+} lo que demuestra que las bacterias han causado la oxidación del hierro contenido en las escorias [FIGURA 01-14]. Por otra parte, y dado que las escorias son la única

FIGURA 01-14

Resultados de la biolixiviación de escorias de cobre

Se muestran los datos analíticos del medio de cultivo tras 18 días de incubación. La concentración de hierro y cobre se expresa en mg/l; la conductividad en mS/cm; y el potencial redox en mV.

Parámetros	Control	Inoculado	Δ%
COBRE	2,8	43,3	93,5
HIERRO	168,0	735,5	77,2
pH	4,02	2,09	-52,0
CONDUCTIVIDAD	8,24	11,17	26,2
POTENCIAL REDOX	207	633	67,3





fuentes de hierro y cobre, es evidente que los metales medidos en el medio proceden de las escorias (el inóculo las muestras sólo aporta 0,02 mg/l de hierro). Por tanto, cabe esperar que las escorias hayan disminuido su tamaño y que estén erosionadas por acción de las bacterias.

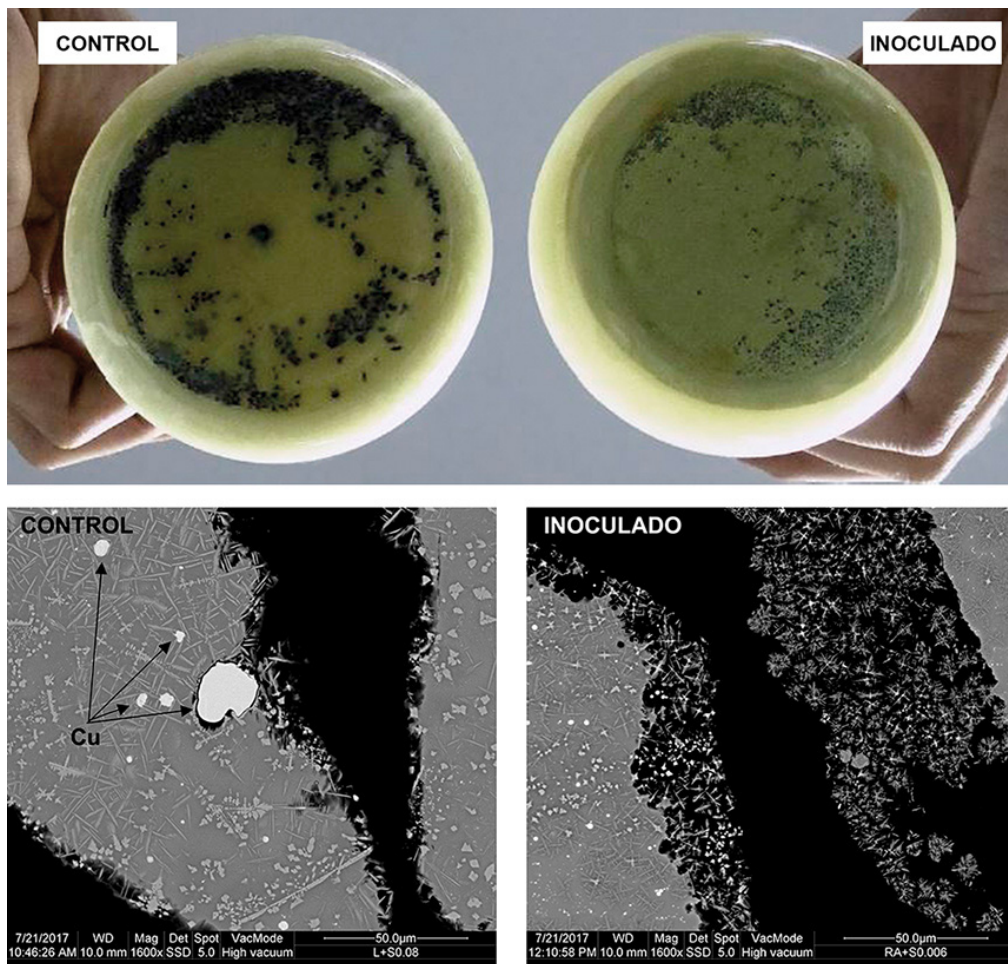
Por último, tanto mediante la observación a simple vista como a través del microscopio electrónico de barrido (SEM) se observan cambios notables en las escorias [FIG. 01-15]. En el primer caso, se aprecia que el tamaño de las escorias ha descendido sensiblemente. Cuando se realiza la observación bajo el

**FIGURA
01-15**

Observación de las escorias a simple vista (arriba) y mediante SEM (abajo)

FOTOGRAFÍA: F. Córdoba y P. Borrego -arriba-; M. Bacedoni -abajo-

A la izquierda se muestran los controles (incubación sin bacterias) y la derecha las escorias tratadas con bacterias durante 18 días de incubación.





SEM, es notable que las escorias tratadas con las bacterias tienen un borde mucho más erosionado que las del control (sólo expuestas al medio de cultivo en ausencia de bacterias) –las fotografías que se muestran están a la misma escala-. Además en las escorias no tratadas se observan grandes inclusiones de cobre, cuyo tamaño es muy inferior en las tratadas con bacterias. Estas imágenes demuestran que las escorias se van biolixiviando en presencia de bacterias, y por consiguiente, disminuyendo su tamaño y liberando al medio su contenido en cobre y en hierro.

[7]

Conclusiones

En las páginas precedentes hemos comprobado cómo la geología y la biología han determinado la historia y la geografía de la provincia de Huelva. A un proceso que se inició hace millones de años, la formación de la faja pirítica, le sucedió la utilización de sus materiales, como fuente nutritiva, por una variedad de bacterias que, definidas por su metabolismo singular, fueron lixivando los minerales sulfurosos y tiñendo las aguas de sus ríos de un color rojo a la vez que se acidificaban, lo que facilitó el transporte de numerosos metales hasta su desembocadura en el Atlántico. Este proceso natural se vio intensificado por la explotación histórica de sus recursos minerales, por lo que la acción antropogénica fue a la vez fuente de riqueza para la provincia, pero también la causa de un problema ambiental de enorme magnitud: el Drenaje Ácido de Mina. Sin embargo, y como una paradoja, el conocimiento exhaustivo del metabolismo de dichas bacterias nos está proporcionando nuevas oportunidades de relación con el medio, mediante el desarrollo de biotecnologías que inciden en el desarrollo sostenible y en la conservación del medio ambiente y de su diversidad.

[8]

Agradecimientos

A Pedro Borrego, corresponsable de los estudios con escorias. A María Bacedoni por los análisis de las escorias bajo el microscopio electrónico. Y al Dr. Ignacio Moreno Ventas-Bravo por proporcionarnos las escorias y asesorarnos sobre la metalurgia del cobre.

[9]

Bibliografía

- | Aguilera A (2013). *Eukaryotic Organisms in Extreme Acidic Environments, the Río Tinto Case*. Life 3: 363-374.
- | Amils R (2016). *Lessons learned from thirty years of geomicrobiological studies of Río Tinto*. Research in Microbiology. 167: 539-545.



- | Banerjee I, Burrell B, Reed C, West AC, Banta S (2017). *Metals and minerals as a biotechnology feedstock: engineering biomining microbiology for bioenergy applications*. *Current Opinion in Biotechnology* 45:144-155
- | Bellenberg S, Díaz M, Noel N, Sand W, Poetsch A, Guilian N, Vera M (2014). *Biofilm formation, communication and interactions of leaching bacteria during colonization of pyrite and sulfur surfaces*. *Research in Microbiology* 165: 773-781
- | Brierley CL, Brierley JA (2013). *Progress in bioleaching: part B: applications of microbial processes by the minerals industries*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97: 7543-7552
- | Bryan CG (2011) *The efficiency of indigenous and designed consortia in bioleaching stirred tank reactors*. *Miner. Eng.* 24: 1149-1156
- | Bryan CG, Hallberg KB, Johnson DB (2006) *Mobilisation of metals in mineral tailings at the abandoned São Domingos copper mine (Portugal) by indigenous acidophilic bacteria*. *Hydrometallurgy* 83: 184-194.
- | Chandraprabha MN, Natarajan KA (2013) *Role of outer membrane exopolymers of Acidithiobacillus ferrooxidans in adsorption of cells onto pyrite and chalcopyrite*. *International Journal of Mineral Processing* 123: 152-157.
- | Dey A, Dev D, Saha P (2014). *Use of copper slag as sustainable aggregate*. ICSCI-ASCE India Section, pp: 617- 624.
- | Esparza M, Cárdenas JC, Bowien B, Jedlick E, Holmes DS (2010) *Genes and pathways for CO₂ fixation in the obligate, chemolithoautotrophic acidophile, Acidithiobacillus ferrooxidans, carbon fixation in A. ferrooxidans*. *BMC Microbiology* 10: 229-241
- | Fonti v, Dell'anno A, Beolchini f (2016). *Does bioleaching represent a biotechnological strategy for remediation of contaminated sediments?* *Science of the Total Environment* 563–564: 302-319
- | Gang M, Li MM, Zeng J, Liu XX, Zhu JY, Hu YH, Qiu GZ (2017). *Acidithiobacillus ferrooxidans enhanced heavy metals immobilization efficiency in acidic aqueous system through bio-mediated coprecipitation*. *Trans. Non-ferrous Met. Soc. China* 27: 1156-1164
- | García-Moyano A, González-Toril E, Aguilera A, Amils R (2007). *Prokaryotic community composition and ecology of floating macroscopic filaments from an extreme acidic environment, Río Tinto (SW, Spain)*. *Systematic and Applied Microbiology* 30: 601-614
- | Gómez-Ortiz D, Fernández-Remolar DC, Granda, Quesada C, Granda T, Prieto-Ballesteros O, Molina A, Amils R (2004) *Identification of the subsurface sulfide bodies responsible for acidity in Río Tinto sourcewater, Spain*. *Earth and Planetary Science Letters* 391: 36-41.
- | González-Toril E, Santofimia E, López-Pamo E, García-Moyano A, Aguilera A, Amils R (2014). *Comparative microbial ecology of the water column of an extreme acidic pit lake, Nuestra Señora del Carmen, and the Río Tinto basin (Iberian Pyrite Belt)*. *International Microbiology* 17: 225-233.
- | Gorai B, Jana RK, Premchand (2003) *Characteristics and utilization of copper slag - A review*. *Resources, Conservation and Recycling*. 39: 299-313.
- | Grande JA, Aroba J, Andújar JM, Gómez T, De La Torre ML, Borrego J; Romero S; Barranco C.; Santisteban M (2011) *Tinto versus Odiel: Two AMD polluted rivers and an unresolved issue. An artificial intelligence approach*. *Water Resources Management*. 25: 3575-3594.
- | Harish V, Sreepada RA, Suryavanshi U, Shanmuganthan P, Sumathy A (2011). *Assessing the effect of leachate of copper slag from the ISASMELT process on cell growth and proximate components in microalgae (Chlorella vulgaris Beijerinck)*. *Toxicol. Env. Chem.* 93: 1399-1412.
- | Huang LN, Kuang JL, Shu WS (2016). *Microbial ecology and evolution in the acid mine drainage model system*. *Trends in Microbiology* 24: 581-593



- | Jerez CA (2017). *Biomining of metals: how to access and exploit natural resource sustainably*. *Microbial Biotechnology*, 10: 1191-1193.
- | Jia Y, Tan Q, Sun H, Zhang Y, Gao H, Ruan R (2018). *Sulfide mineral dissolution microbes: Community structure and function in industrial bioleaching heaps*. *Green Energy & Environment* xx: 1-9.
- | Johnson DB (2018). *The evolution, current status, and future prospects of using biotechnologies in the mineral extraction and metal recovery sectors*. *Minerals* 8: 343-357.
- | Kaksonen AH, Särkijärvi S, Puhakka JA, Peuraniemi E, Junnikkala S, Tuovinen OH. (2016). *Chemical and bacterial leaching of metals from a smelter slag in acid solutions*. *Hydrometallurgy*.159: 46-53.
- | Kocaman AT, Cemek M, Edwards KJ (2016). *Kinetics of pyrite, pyrrhotite and chalcopyrite dissolution by Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Canadian Journal of Microbiology* 1-39
- | Kucera J, Pakostova E, Lochman J, Janiczek O, Mandl M (2016). *Are there multiple mechanisms of anaerobic sulfur oxidation with ferric ions in Acidithiobacillus ferrooxidans?* *Research in Microbiology* 167: 357- 366
- | Latorre M, Cortés MP, Travisany D, Maass A (2016) *The bioleaching potential of a bacterial consortium*. *Biore-source Technology* 218: 659-666
- | Liu C, Jia Y, Sun H, Tan Q, Niu X, Leng X, Ruan R (2017) *Limited role of sessile acidophiles in pyrite oxidation below redox potential of 650 mV*. *Scientific Reports* 7: 1-8
- | Mackintosh ME (1978) *Nitrogen Fixation by Thiobacillus ferrooxidans*. *Journal of General Microbiology* 105: 215-218
- | Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA (2015). *Brock biology of microorganisms* (Fourteenth edition.). Boston: Pearson.
- | Mahmoud A, Cézac P, Hoadley AFA, Contamine F, D'hugues P (2017). *A review of sulfide minerals microbially assisted leaching in stirred tank reactors*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 119: 118- 146.
- | Márquez-García B, Córdoba F (2010). *Antioxidative system in wild populations of Erica andevalensis*. *Environmental and Experimental Botany*, 68: 58-65.
- | Mishra D, Rhee YH (2014). *Microbial leaching of metals from solid industrial wastes*. *Journal of Microbiology* 52: 1-7.
- | Mishra S, Panda S, Pradhan N, Biswal S, Sukla LB, Mishra BK (2015). *Microbe–mineral interactions: exploring avenues towards development of a sustainable microbial technology for coal beneficiation*. En: *Environmental Microbial Biotechnology, Soil Biology* 45, pp: 33-52. L.B. Sukla et al. (eds.). Springer International Publishing Switzerland.
- | Nataraja MC, Chandan GN, Rajeeth TJ (2014). *Concrete mix design using copper slag as fine aggregate*. *Proceedings of the 2nd International Conference on Current Trends in Engineering and Management ICCTEM - 2014*. 5: 90-99.
- | Nieto JM, Sarmiento AM, Olías M, Canovas CR, Riba I, Kalman J, Delvalls A (2007) *Acid mine drainage pollution in the Tinto and Odiel rivers (Iberian Pyrite Belt, SW Spain) and bioavailability of the transported metals to the Huelva Estuary*. *Environment International* 33: 445-455.
- | Norris PR, Murrell JC, Hinson D (1995). *The potential for diazotrophy in iron- and sulfur-oxidizing acidophilic bacteria*. *Archives of Microbiology*. 164: 294-300.
- | Oecd (2006) *Consensus document on information used in the assessment of environmental applications involving Acidithiobacillus*. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 37, 66 pp.
- | Olias M, Nieto JM (2015). *Background conditions and mining pollution throughout history in the río Tinto (SW Spain)*. *Environments* 2: 295–316.



- | Orell A, Navarro CA, Arancibia R, Mobarec JC, Jerez CA (2010). *Life in blue: Copper resistance mechanisms of bacteria and Archaea used in industrial biomining of minerals*. Biotechnology Advances 28: 839- 848.
- | Osorio H, Mangold S, Denis Y, Nancuqueo I, Esparza M, Johnson DB, Bonnefoy V, Dopson M, David F, Holmes S (2013). *Anaerobic sulfur metabolism coupled to dissimilatory iron reduction in the extremophile Acidithiobacillus ferrooxidans*. Applied and Environmental Microbiology 79: 2172–2181.
- | Panda S, Mishra S, Srinivasa D, Pradhan N, Mohapatra U, Angadi S, Kanta B (2015) *Extraction of copper from copper slag: Mineralogical insights, physical beneficiation and bioleaching studies*. Korean Journal of Chemical Engineering. 32: 667–676.
- | Pearce J, Weber P, Pearce S, Scott P (2016). *Acid and metalliferous drainage contaminant load prediction for operational or legacy mines at closure*. Mine Closure. AB Fourie and M Tibbett (eds). Australian Centre for Geomechanics, Perth. Pp: 663-676.
- | Pollmann K, Kutschkea S, Matysa S, Raff J, Hlawacek G, Lederera FL (2018). *Bio-recycling of metals: Recycling of technical products using biological*. Applications Biotechnology Advances 36: 1048-1062.
- | Potysz A, Van Hullebusch ED, Kierczak J, Grybos M, Lens PNL, Guibaud G (2015) *Copper Metallurgical Slags – Current Knowledge and Fate: A Review*. Critical Reviews in Environmental Science and Technology. 45: 2424-2488.
- | Pradhan N, Nathsarma KC, Rao KS, Sukla LB, Mishra BK (2008). *Heap bioleaching of chalcopyrite: A review*. Minerals Engineering 21 (2008) 355–365.
- | Pretorius IM, Rawlings DE, O’neill EG, Jones WA, Kirby R, Woodss DR (1987). *Nucleotide sequence of the gene encoding the nitrogenase iron protein of Thiobacillus ferrooxidans*. Journal of Bacteriology 169: 367- 370.
- | Quatrini R, Johnson DB (2018). *Microbiomes in extremely acidic environments: functionalities and interactions that allow survival and growth of prokaryotes at low pH*. Current Opinion in Microbiology 43:139-147.
- | Rawlings DE, Dew D, DU Plessis C (2003). *Biomining of metal-containing ores and concentrates*. Trends in Biotechnology 21: 38-44.
- | Rohwerder T, Gehrke T, Kinzler K, Sand W (2003). *Bioleaching review part A: Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation*. Appl Microbiol Biotechnol (2003) 63: 239–248.
- | Sánchez-España J, López-Pamo E, Santofimia E, Aduvire O, Andrés JR, Martín JA (2005). *The Tintillo acidic river (Rio Tinto mines, Huelva, Spain): an example of extreme environmental impact of pyritic mine wastes on the environment or an exceptional site to study acid-sulphate mine drainage systems?* Proceedings Volume of the Securing the Future International Conference on Mining, Metals and the Environment, Skellefteå, Sweden. I: 278-287.
- | Sand W, Gehrke T (2006) *Extracellular polymeric substances mediate bioleaching/biocorrosion via interfacial processes involving iron(III) ions and acidophilic bacteria*. Res. Microbiol. 157: 49-56.
- | Santofimia E, González-Toril E, López-Pamo E, Gomariz M, Amils R, Aguilera A (2013). *Microbial diversity and its relationship to physicochemical characteristics of the water in two extreme acidic pit lakes from the Iberian Pyrite Belt (SW Spain)*. PLoS One 8, e66746.
- | Sarmiento AM, Bonnailb E, Nieto JM, Delvalls A (2017) *Preliminary results of ecotoxicological assessment of an Acid Mine Drainage (AMD) Passive Treatment System testing water quality of depurated lixiviates*. Procedia Earth and Planetary Science 17: 269-272.
- | Sasson A, Malpica C. (2018). *Bioeconomy in Latin America*. New Biotechnology 40: 40-45.
- | Silverman MP, Lundgren D.G. (1959). *Studies on the chemoautotrophic iron bacterium Ferrobacillus ferrooxidans II. : Manometric Studies*. Journal of Bacteriology. 78: 326-331.



- | Starosvetsky J, Zukerman U, Armon RH (2013). *A simple medium modification for isolation, growth and enumeration of Acidithiobacillus thiooxidans (syn. Thiobacillus thiooxidans) from water samples.* Journal of Microbiological Methods 92: 178-182.
- | Tornos F (2008) *La Geología y Metalogenia de la Faja Pirítica Ibérica.* MACLA 10: 13-23.
- | Tornos F; López-Pamo E, Sánchez España FJ (2009). *The Iberian Pyrite Belt. In: Spanish geological frameworks and geosites. An approach to Spanish geological heritage of international relevance.* A. García-Cortés, Ed., IGME, Madrid, 56-64.
- | Tu Z, Guo C, Zhang T, Lu G, Wan J, Liao C, Dang Z (2017). *Investigation of intermediate sulfur species during pyrite oxidation in the presence and absence of Acidithiobacillus ferrooxidans.* Hydrometallurgy 167: 58- 65
- | Valdés J, Pedroso I, Quatrini R, Dodson RJ, Tettelin H, Blake R, Eisen JA, Holmes DS (2008). *Acidithiobacillus ferrooxidans metabolism: from genome sequence to industrial applications.* BMC Genomics 9: 597-621.
- | Velasco F, Herrero JM, Suárez S, Yusta I, Alvaro A, Tornos F (2013). *Super-gene features and evolution of gossans capping massive sulphide deposits in the Iberian Pyrite Belt.* Ore Geol.Rev.53:181-203.
- | Vera M, Schippers A, Sand W (2013). *Progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation-Part AA.* Microbiol. Biotechnol. 97: 7529-7541.
- | Wang J, Salem DR, Sani RK (2019). *Extremophilic exopolysaccharides: A review and new perspectives on engineering strategies and applications.* Carbohydrate Polymers 205: 8-26.
- | Yang Z, Rui-Lin M, Wang-Dong N, Hui W. (2010) *Selective leaching of base metals from copper smelter slag.* Hydrometallurgy 103: 25-29.
- | Zhu J, Li Q, Jiao W, Jiang H, Sand W, Xia J, Liu X, Qin W, Qiu G, Hu Y, Chai L. (2012). *Adhesion forces between cells of Acidithiobacillus ferrooxidans, Acidithiobacillus thiooxidans or Leptospirillum ferrooxidans and chalcopyrite.* Colloids and Surfaces B. Biointerfaces 94: 95-100



Se terminó de editar el libro
Biología de Huelva
Naturaleza, Biodiversidad,
Bioindicadores y Biomarcadores
el 12 de mayo de 2022,
estando al cuidado de la edición
el Servicio de Publicaciones
de la Universidad de Huelva





DIPUTACIÓN
DE **HUELVA**



Universidad
de Huelva



CÁTEDRA
DE LA PROVINCIA