**Evaluación de la Diversidad Microbiana en Suelos de Minera La Zanja y Coimolache: Aplicaciones para el Cierre de Minas y Restauración de Suelos**

(ESG - Pasivos ambientales y Cierre de Minas)

**Gabriela Palomino Lucano 1, Jimmy López Pérez 2 y Benoit Diringer 3**

1Compañía de Minas Buenaventura, Ca. Begonias 415 – Piso 19 - San Isidro, Lima, Perú ([gabriela.palomino@buenaventura.pe](mailto:gabriela.palomino@buenaventura.pe), 957921564)

2INCABiotec S.A.C, Jr. Filipinas N° 212, Tumbes, Perú ([lopezj@incabiotec.com](mailto:lopezj@incabiotec.com), 942151744)

3INCABiotec S.A.C, Jr. Filipinas N° 212, Tumbes, Perú ([diringerb@incabiotec.com](mailto:diringerb@incabiotec.com), 965381633)

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**RESUMEN**

En el contexto del cierre de minas, Minera La Zanja (MLZ) y Compañía Minera Coimolache (CMC) de Buenaventura, vienen desarrollando iniciativas de investigación con el fin de optimizar las operaciones de cierre en el Norte del Perú – Cajamarca. El presente estudio utilizó la metagenómica, una herramienta de biología molecular, para identificar las comunidades microbianas de diferentes muestras de suelo de MLZ y CMC. El objetivo principal fue identificar la totalidad de microorganismos (comunidades bacterianas y fúngicas) de cada tipo de suelo y determinar aquellos que actúan como indicadores de fertilidad para su posterior uso en el cierre de componentes mineros y la restauración de suelos. Para ello, se monitorearon diferentes tipos de suelos de áreas prístinas, de zonas de almacenamiento de suelo orgánico (topsoil) (DMO), de suelo orgánico (topsoil) aireado, de suelo orgánico mezclado con biomasa de pino, residuos orgánicos, ceniza, caliza y lodo de planta (tecnosol maduro), y de áreas cerradas previamente con tecnosol. Se midieron además parámetros fisicoquímicos y se analizaron los resultados mediante índices de diversidad microbiana (Chao1, Shannon y Simpson) y análisis estadísticos.

Entre los resultados se obtuvo que los suelos prístinos tuvieron características ácidas con pH 4.5 y se identificaron microorganismos acidotolerantes, que participan en el ciclo del nitrógeno, del carbono y en la formación de humus. En el caso de los suelos orgánicos (topsoils) se estudiaron 2 grupos, uno de condiciones más ácidas, con pH 3.9 – 4.7, debido a su condición de almacenamiento (en DMO), sin aireación, y de textura franco-arcilloso, en el cual se identificaron microorganismos acidófilos y desnitrificantes; un segundo grupo, de condiciones menos ácidas, con pH 6.53, aireado de forma interdiaria durante dos semanas, y de textura franco-arenoso, en el cual se identificaron microorganismos aerobios, fijadores de nitrógeno, degradadores de materia orgánica, solubilizadores de nutrientes y productores de metabolitos que mejoran la fertilidad del suelo. El tecnosol maduro, tuvo características moderadamente alcalinas con pH 7.7, y se identificaron microorganismos que participan en la descomposición de la lignocelulosa, la mineralización de nutrientes y la regeneración de la fertilidad de los suelos. Las áreas cerradas con tecnosol tuvieron cobertura vegetal de 8 meses, y características ligeramente ácidas con pH 6.5, donde además se identificó una comunidad microbiana heterogénea, con la predominancia de géneros relacionados con el ciclo del azufre, carbono y nitrógeno, así como con procesos de biorremediación de metales pesados y degradación de compuestos orgánicos.

Los resultados del estudio proporcionan bases para la implementación de nuevas estrategias centradas en la utilización de microorganismos benéficos como *Bacteroides, Bradyrhizobium, Cellulomonas, Flavihumibacter, Flavobacterium, Geobacter, Nitrosococcus, Nitrosospira, Nitrosovibrio y Rhizobium,* para mejoran la fertilidad de los suelos en el cierre de componentes mineros. Así también, los resultados de los suelos orgánicos aireados (topsoil aireado), mostraron que el tratamiento físico de aireación mediante volteos previo a su uso, mejora significativamente sus características fisicoquímicas y microbianas, incrementando su pH y su capacidad de fertilización que se habían perdido producto del almacenamiento en DMO. Este último resultado, es relevante, ya que muchos suelos orgánico-almacenados son descartados para su uso o son empleados directamente en actividades de remediación sin tratamiento previo, generando escorrentías ácidas durante periodos prolongados tras el cierre, el cual puede revertirse aireando el suelo previo a su uso.

Esta investigación ha sido publicada en la revista científica PLOS ONE (Q1) bajo el título “Assessing microbial diversity in open-pit mining: Metabarcoding analysis of soil and pit microbiota across operational and restoration stages”

Disponible en el siguiente enlace: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0320923>

**1. Introducción**

Las actividades mineras a cielo abierto realizan explotaciones superficiales que inicialmente implican la remoción del suelo para acceder a las rocas minerales (Herrera & Pla, 2006). Este proceso desplaza los suelos superficiales (topsoils), que a menudo se almacenan en depósitos durante largos períodos, lo que altera sus propiedades fisicoquímicas (Booshehrian et al., 2020). Asimismo, se generan nuevas estructuras en el paisaje, como tajos, vías de acceso y rellenos, lo que ocasiona impactos ambientales significativos tanto a nivel biótico como abiótico (Yáñez-Vargas Apolinar, 2008).

El cierre de minas busca restaurar los ecosistemas y paisajes a su estado original. Sin embargo, la reutilización de la capa superficial del suelo (topsoil) presenta importantes desafíos debido a sus alteraciones producto de su almacenamiento, que dificultan el crecimiento vegetal y la recuperación del suelo en comparación con las condiciones prístinas (Morales & Domas, 2020).

Por otro lado, las comunidades microbianas del suelo, especialmente bacterias y hongos, son esenciales para el funcionamiento del ecosistema al mejorar el ciclo biogeoquímico, la estructura del suelo, la descomposición de contaminantes y las relaciones simbióticas con plantas y animales. Equilibrar estas comunidades es fundamental para el éxito a largo plazo de la restauración del suelo y del ecosistema (Farrell et al., 2020; Gangola et al., 2019; Watson et al., 2022). Por ello, estudiar los microorganismos del suelo es esencial para una remediación sostenible.

Estudios de cronosecuencia, que evalúan la recuperación del ecosistema a lo largo del tiempo, podrían proporcionar información valiosa sobre los patrones de los microorganismos e informar sobre las estrategias para la restauración sostenible del suelo en áreas impactadas por la minería (Schmid et al., 2020; Tibbett, 2010; Walker, 2011). Así también, realizar análisis metagenómicos, obtenidos mediante secuenciación de fragmentos de ADN microbiano proporciona información completa sobre la biodiversidad microbiana presente en el entorno estudiado (Marco, 2010). Su aplicación está ampliamente extendida en contextos de remediación de suelos (Breed et al., 2019; Liddicoat et al., 2022; Rivera-Urbalejo et al., 2021).

En esta investigación, se realizaron análisis metagenómicos para identificar la totalidad de comunidades bacterianas y fúngicas de diferentes muestras de suelo de Minera La Zanja (MLZ) y Compañía Minera Coimolache (CMC). Se realizaron rigurosos análisis bioinformáticos y estadísticos para correlacionar la estructura microbiana con las propiedades fisicoquímicas de estos ecosistemas durante las fases de operación y restauración. Este trabajo ha sido publicado en la revista científica PLOS ONE, bajo el título “Assessing microbial diversity in open-pit mining: Metabarcoding analysis of soil and pit microbiota across operational and restoration stages” (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0320923>).

**2. Objetivos**

2.1. Identificar las comunidades bacterianas y fúngicas de las diferentes muestras de suelo de MLZ y CMC.

2.2. Correlacionar la estructura microbiana con las propiedades fisicoquímicas de las muestras de suelo durante las fases de operación y restauración, en ambas unidades mineras.

**3. Compilación de Datos y Desarrollo del Trabajo**

**Recolección de muestras**

Las muestras fueron recolectadas de MLZ y CMC durante la época seca, en agosto de 2021, y en octubre de 2022. Se recolectaron en total siete muestras de suelos, cinco de MLZ y dos de CMC. De MLZ, se recolectó una muestra de suelo de áreas prístinas (PSP), una muestra de topsoil almacenado del depósito de material orgánico-DMO Oeste (TSO), una muestra de topsoil aireado de plataforma 3 de tecnosoles (L-01), una muestra de tecnosol maduro (TCZ), compuesto por suelo orgánico, biomasa de pino, residuos orgánicos, ceniza, caliza y lodo de planta de tratamiento de aguas ácidas, y una muestra de tecnosol de ocho meses de haber sido dispuesto y sembrado con *Lolium sp*., *Trifolium sp*., *Festuca sp*., *Vicia sp*., *Lupinus sp*. y *Cytisus sp*. (TCP). De CMC, se recolectaron dos muestras de topsoil, una del DMO Tiwinza (TSC) y otra del DMO Ciénega (TSD) (Fig. 1). En cada punto de recolección, se tomaron cinco submuestras, las cuales se homogeneizaron y se obtuvieron muestras de 1 kg, que se mantuvieron a 4°C hasta llegar al laboratorio, y se almacenaron a -20°C hasta su análisis (MINAM, 2014). En estas muestras se midió el pH, textura, carbono orgánico total y nitrógeno total (Tabla 1).

Mapa

El contenido generado por IA puede ser incorrecto.

Figura 1. Ubicación geográfica de los puntos de muestreo en minera La Zanja y minera Coimolache.

Fuente: Heredia Reto et al. (2025).

**Extracción y secuenciación de ADN**

La extracción total de ADN se realizó utilizando el kit Power Soil (MOBIO Laboratories Inc., Carlsbad, CA, EE. UU.). Para la identificación molecular de todas las bacterias presentes en las muestras de suelo, se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), para generar copias de la región hipervariable V4 del gen ARNr 16S empleando los primers 515F/806R (Caporaso et al., 2011). Para la identificación molecular de todos los hongos presentes en las muestras de suelo, se utilizó también la técnica de PCR para generar copias de las regiones variables ITS1 e ITS2 empleando los primers ITS1F/ITS2R (Sun et al., 2016; White et al., 1990).

La secuenciación de ADN microbiano se realizó en un secuenciador Illumina MiSeq, por la empresa MR DNA, Shallowater, EE. UU. Las secuencias obtenidas de ADN se clasificaron taxonómicamente mediante la herramienta BLASTn del NCBI.

**Cálculo de la diversidad ecológica**

Los índices de diversidad y las correlaciones de Pearson se calcularon con el programa Past4 y R-Studio. La validez de los datos se verificó mediante cálculos manuales en Microsoft Excel 2021, tomando las lecturas como base para estos cálculos. La correlación de Pearson se confirmó con el programa GraphPad Prism 10. Los gráficos BiPlot, junto con representaciones del índice de Shannon, índice de Simpson, índice de Simpson inverso y Chao1, abundancia de géneros bacterianos y fúngicos, se realizaron en GraphPad Prism 10. Los gráficos de violín para el grupo "otros" y el análisis ANOVA de dos vías se realizó en GraphPad Prism 10. Se realizó un análisis de Correspondencia Canónica (ACC) con el programa Past4 para evaluar la relación entre la abundancia de especies y las variables ambientales, incluyendo el pH, el contenido de carbono orgánico y el contenido de nitrógeno total.

Tabla 1. Información de puntos de muestreo.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Muestra** | **Código** | **Unidad minera** | **Georreferencia  UTM** | **Altitud  (msnm)** | **Parámetros** |
|  |
| Suelo prístino | PSP | MLZ | 731335  9244709 | 3223 | pH: 4.5; C.O: 8.8%; N.T.: 5430 mg/Kg;  Textura: franco arcilloso |  |
|  |
| Tecnosol maduro | TCZ | MLZ | 733269 9244976 | 3560 | pH: 7.7; C.O: 6.8– 7.9%; N.T.: 2459-3076 mg/Kg;  Textura: franco arenoso |  |
|  |
| Tecnosol  revegetado | TCP | MLZ | 731909 9245363 | 3299 | pH: 6.5 – 7.5; C.O: 5– 8.8%; N.T.: 2400-3500 mg/Kg;  Textura: franco arenoso |  |
|  |
| Topsoil -  DMO Oeste | TSO | MLZ | 732169 9244278 | 3546 | pH 4-4.7; C.O: 4.4 -8%; N.T.: > 3300 mg/kg;  Textura: franco arcilloso |  |
|  |
| Topsoil aireado - Plataforma 3 | L-01 | MLZ | 733158 9245035 | 3546 | pH 6.53; C.O: 5.4%; N.T.: 4167 mg/kg;  Textura: franco arenoso |  |
|  |
| Topsoil -  DMO Tiwinza | TSC | CMC | 757482.22 9256252.37 | 3932 | pH: 3.9; C.O: 3 – 5%; N.T.: > 2000 mg/kg;  Textura: franco arcilloso |  |
|  |
| Topsoil -  DMO Ciénega | TSD | CMC | 753665 9255506.84 | 3800 | pH: 4.27; C.O: 5 – 7%; N.T.: > 2000 mg/kg;  Textura: franco arcilloso |  |
|  |

**Nota:** CMC: Minera Coimolache S.A., MLZ: Minera La Zanja. C.O: Carbono orgánico total; N.T.: Nitrógeno total; C.T: Carbono total.

**4. Presentación y discusión de resultados**

**Muestras de suelo**

Se determinaron las propiedades fisicoquímicas del suelo (Tabla 1). El suelo prístino y topsoils almacenados tendieron a ser ácidos, con un pH entre 3.9 y 4.7, un contenido de carbono orgánico que osciló entre 3 y 8.8%, y una textura franco-arcilloso; mientras que el topsoil aireado (L-01), tuvo un pH cercano al neutro 6.53, y una textura franco arenoso, similar a los tecnosoles, que también tuvieron pH cercano al neutro, entre 6.5 y 7.7, contenido de carbono orgánico entre 5 y 8.8% y una textura franco-arenoso. Las muestras de topsoil de CMC presentaron concentraciones de nitrógeno total más bajas que las de MLZ.

**Análisis metagenómico a nivel bacteriano**

Se realizó un análisis metagenómico para identificar la biodiversidad bacteriana presente en las muestras de suelo de MLZ y CMC. La evaluación de la composición microbiana en entornos mineros es de creciente interés, debido que los microorganismos son esenciales para la resiliencia de los ecosistemas perturbados (Cuevas-Reyes, 2010; Sancho et al., 2022).

La biodiversidad microbiana en estas muestras incluyó un total de 415 géneros bacterianos. Los tecnosoles (TCZ, TCP) presentaron una mayor diversidad, mientras que el suelo prístino presentó el menor número de géneros.

De acuerdo con el análisis Chao1, que refleja la variabilidad en la estimación de la riqueza de especies entre las diferentes muestras analizadas, las muestras de topsoil de MLZ y CMC (TSO, TSD y TSC) presentaron la mayor riqueza bacteriana, seguidas del suelo prístino (PSP) (Fig. 2A). Estos datos sugieren diferencias en la biodiversidad potencial entre las muestras, un valor superior a 100 o 200 puede considerarse indicativo de una riqueza de muestra relativamente alta (Li et al., 2021).

Mediante el índice de Shannon, que mide la diversidad de especies en una comunidad perturbada (Fedor & Spellerberg, 2013), los tecnosoles TCP, TCZ y el topsoil del DMO Oeste de MLZ (TSO) tuvieron los índices de Shannon más altos (Fig. 2B), lo que indica mayor diversidad y equidad entre las muestras, mientras que el suelo prístino PSP tuvo el valor más bajo, probablemente debido a la heterogeneidad de las especies.

Por otro lado, la dominancia de especies revelada por el índice de Simpson (Simpson, 1949), muestra que el topsoil del DMO Oeste de MLZ (TSO) y el tecnosol revegetado TCP presentaron los valores más bajos, lo que sugiere una dominancia menor y una distribución de especies más uniforme en estas muestras (Fig. 2C).

En el índice de Simpson inverso, una métrica de diversidad que enfatiza la dominancia de especies dentro de una comunidad microbiana (Jost, 2007), el tecnosol revegetado TCP presentó el valor más alto, lo que sugiere una mayor diversidad efectiva, mientras que el suelo prístino PSP presentó el valor más bajo (Fig. 2D).

En el análisis de componentes principales, una técnica estadística que permite analizar las variaciones en las comunidades microbianas presentes en suelos contaminados, haciendo énfasis en las correlaciones entre diferentes variables ambientales y biológicas (Rivera-Urbalejo et al., 2021; Martínez-Manchego et al., 2021; Quiroz-Mojica et al., 2021), se observó una dispersión de datos en dirección opuesta al componente principal, con un patrón de agrupamiento que muestra el punto del tecnosol maduro TCZ con la menor interrelación con los demás. Sin embargo, el tecnosol revegetado TCP estuvo más cerca del tecnosol maduro TCZ, y su ángulo de eje sugiere una baja correlación entre ellos, pero mayor que con las demás muestras. La disposición entre los demás puntos, suelo prístino PSP y topsoils TSO, TSC, TSD sugiere una similitud significativa (Fig. 2E).

En el análisis de correlación de Pearson, una medida estadística que evalúa la relación lineal entre dos variables cuantitativas, como variables ambientales y biológicas que puedan influir en la composición de comunidades microbianas y en la abundancia de diversos tipos de microorganismos presentes en esos suelos (Ren et al., 2018), muestra que el suelo prístino y topsoils (PSP, TSD, TSO, TSC) forman un clúster con correlaciones fuertes (r entre 0.62 y 0.84), indicando composiciones de género muy similares en el perfil microbiano de estos sitios (Fig. 2F); en contraste, el tecnosol maduro TCZ presenta correlaciones mínimas con todos los demás suelos (r entre 0.05 y 0.11), lo que revela una comunidad de géneros claramente distinta. El tecnosol revegetado (TCP) muestra correlaciones bajas a moderadas con los suelos naturales (r entre 0.20 y 0.32), sugiriendo una transición intermedia en su microbiota.

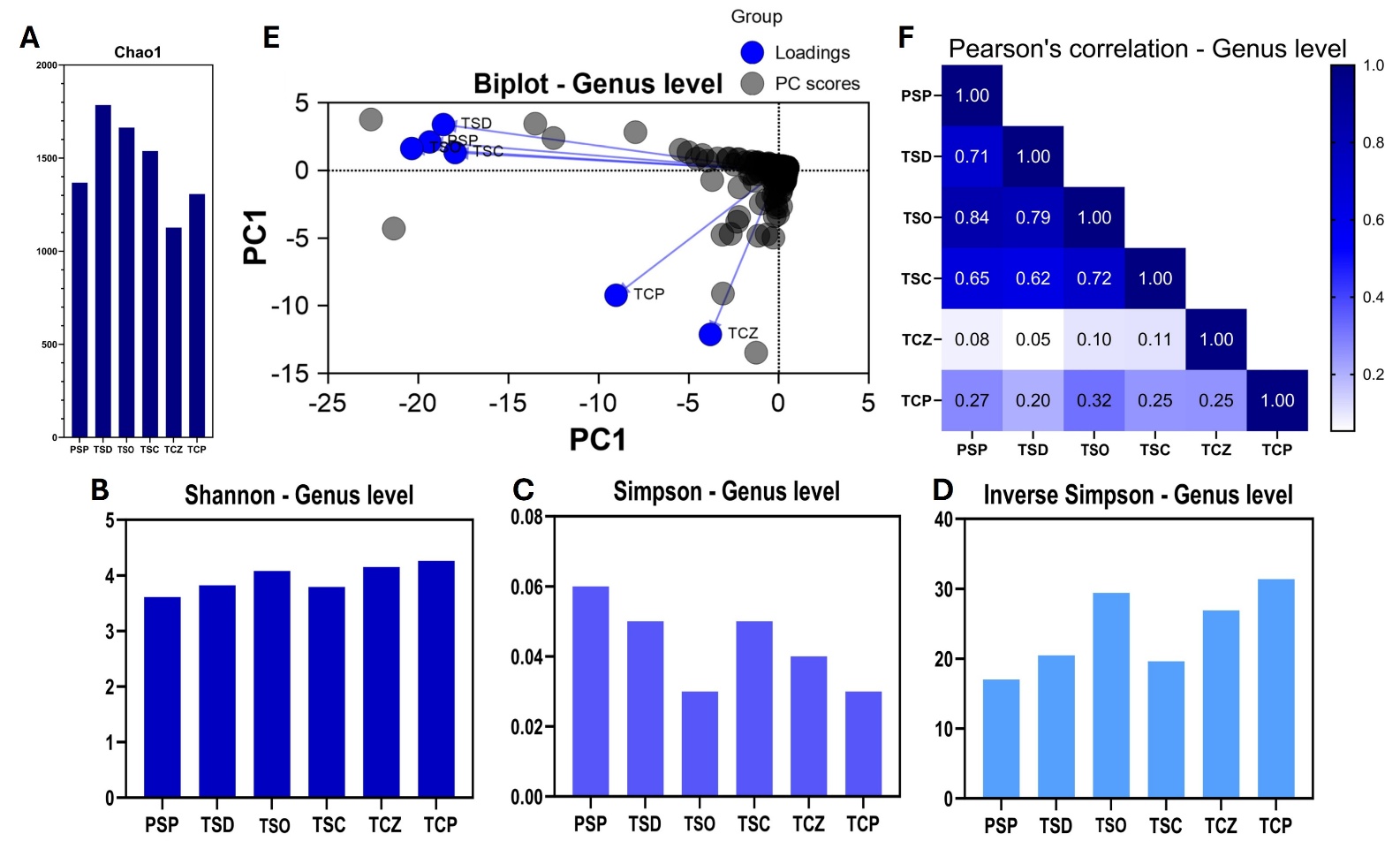


Figura 2. Diversidad bacteriana en muestras de suelo. A: Índice Chao1. B: Índice de Shannon. C: Índice de Simpson. D: Índice de Simpson inverso. E: Gráfico Biplot del Análisis de Componentes Principales, PC1 representa los datos de abundancia. F: Gráfico de correlación de Pearson. Donde PSP: Suelo prístino de MLZ. TSD: Topsoil del DMO Ciénega de CMC. TSO: Topsoil del DMO Oeste de MLZ. TSC: Topsoil del DMO Tiwinza de CMC. TCZ: Tecnosol maduro de MLZ. TCP: Tecnosol revegetado de MLZ.

La representación del mapa de calor de la distribución de géneros bacterianos destaca que *Acidobacterium* fue el único con una prevalencia superior al 1% en todas las muestras, aunque su presencia en el tecnosol TCZ fue reducida (Fig. 3A). Se detectó una alta prevalencia de *Nitrosovibrio* y *Holophaga* (promedio 10.9% y 6.7%) en suelo prístino PSP y topsoil del DMO Ciénega de CMC (TSD), mientras que en los tecnosoles su abundancia disminuyó notablemente (promedio 1.0% y 0.1%, respectivamente).

Otro género relevante fue *Pedosphaera*, que fue predominantemente en suelo prístino PSP, mientras que su presencia disminuyó en las demás muestras. También se encontraron otros géneros más discretos presentes en suelo prístino y topsoils y casi ausentes en tecnosoles, como *Candidatus koribacter*, *Steroidobacter*, *Rhodothermus*, *Candidatus solibacter*, *Prosthecobacter* y *Bradyrhizobium*. Los géneros más prominentes y comunes en los topsoils fueron *Ktedonobacter*, *Thermoflavimicrobium* y *Methylobacter*. Los géneros *Bacteroides* y *Acidovorax* fueron comunes en tecnosoles (promedios de 3.0% y 2.9%), mientras que en el suelo prístino y topsoils presentaron una baja prevalencia (0.3% y 0.1%). El género *Flavihumibacter* (14.6%) estuvo altamente representado en la muestra de tecnosol maduro TCZ y fue inexistente en casi todas las demás muestras. La muestra de tecnosol revegetado TCP mostró la mayor diversidad de géneros predominantes, como *Thiobacillus*, *Anaeromyxobacter*, *Geobacter*, *Geothrix* y *Pseudomonas*.

El análisis "Otros" incluyó varios géneros con lecturas que, en conjunto, superan a las más abundantes en casi todas las muestras (Fig. 3B). La agrupación de los treinta géneros más abundantes, con referencia a PSP y la constitución taxonómica en el grupo "Otros", podría posiblemente hacer referencia al "núcleo bacteriano". El análisis ANOVA de dos vías mostró una diferencia significativa en el tecnosol maduro TCZ con respecto a todas las demás muestras, excepto con el tecnosol revegetado TCP. También se observaron diferencias significativas en la comparación del tecnosol revegetado TCP con el suelo prístino PSP. Estos resultados respaldan los análisis anteriores, colocando a los tecnosoles TCZ y TCP como las muestras más diferentes del resto.

La similitud de las comunidades bacterianas del suelo prístino PSP, aumenta del 7% en el tecnosol TCZ, al 13% en el tecnosol revegetado TCP (Fig. 3C). Géneros como *Acidobacterium* y *Ohtaekwangia* muestran una recuperación notable, alcanzando el 58.1% y el 70.8% de los niveles del suelo prístino PSP. Además, *Anaeromyxobacter* muestra una proliferación significativa, aumentando del 1.4% en el suelo prístino PSP al 6.1% en el tecnosol revegetado TCP, lo que sugiere un papel en la restauración temprana del suelo. Por el contrario, géneros clave como *Nitrosovibrio*, *Pedosphaera* y *Holophaga* muestran aumentos significativos en el tecnosol revegetado TCP, en comparación con el tecnosol maduro TCZ, pero se mantienen bajos en comparación con el suelo prístino PSP, lo que implica tiempos de recuperación más largos.

En resumen, estos datos reflejan variaciones significativas en la diversidad, dominancia y composición de las comunidades bacterianas en los suelos evaluados, que tienen diferentes condiciones ambientales. En conjunto, las diferencias en los índices de diversidad y los análisis multivariados y de abundancia relativa muestran que las muestras de suelo prístino y topsoils (PSP, TSC, TSD, TSO) formaron un grupo separado de las dos muestras de tecnosoles que compartían similitudes más notables. Entre las muestras de suelo, los topsoils del DMO Oeste de MLZ (TSO) y el topsoil del DMO Ciénega de CMC (TSD) fueron las más similares, separándose del topsoil del DMO Tiwinza de CMC (TSC) y el suelo prístino de MLZ.

Interfaz de usuario gráfica

El contenido generado por IA puede ser incorrecto. Figura 3. Composición bacteriana en muestras de suelo. A: Mapa de calor de géneros bacterianos. B: Gráfica de violín para el grupo "Otros", prueba de diferenciación ANOVA de dos vías. C: Comparación de la prevalencia del género bacteriano principal (>1%) entre suelos prístinos y tecnosoles durante la restauración. Donde PSP: Suelo prístino de MLZ. TSD: Topsoil del DMO Ciénega de CMC. TSO: Topsoil del DMO Oeste de MLZ. TSC: Topsoil del DMO Tiwinza de CMC. TCZ: tecnosol maduro de MLZ. TCP: tecnosol revegetado de MLZ.

**Análisis metagenómico a nivel fúngico**

Se identificaron en total 368 géneros fúngicos, de los cuales en los tecnosoles se identificó la menor diversidad.

El análisis del índice Chao1 mostró que el topsoil del DMO Ciénega de CMC (TSD) y el suelo prístino PSP presentaron la mayor diversidad de especies (Fig. 4A), en contraste, el topsoil del DMO Tiwinza de CMC (TSC), tecnosol revegetado de MLZ (TCP) y el topsoil del DMO Oeste de MLZ (TSO) presentaron la menor diversidad. En general, los índices Chao1 de los hongos fueron menores que los obtenidos en las bacterias.

De acuerdo con los índices de Shannon y de Simpson inverso, los índices de los topsoils (TSD, TSO y TSC) fueron significativamente superiores a las muestras de suelo prístino y tecnosoles (Figs. 4B y 4D). En el índice de Simpson (Fig. 4C) el suelo prístino y los tecnosoles TCZ y TCP, tuvieron mayor índice que las muestras de topsoils (TSD, TSC y TSO).

Por otro lado, en el análisis de componentes principales (Fig. 4E), se muestra una dispersión de datos orientada en dirección opuesta al componente principal, con un patrón de agrupamiento que muestra el tecnosol revegetado TCP con menor relación con los demás. Si bien la proximidad del tecnosol maduro TCZ al tecnosol revegetado TCP indica cierta similitud entre los tecnosoles, el ángulo de los ejes sugiere una baja correlación entre ellos, pero mayor que con las otras muestras. La disposición entre los diferentes puntos sugiere una interrelación significativa entre los suelos "naturales".

En el gráfico de correlación de Pearson (Fig. 4F) se muestra que las mayores similitudes se observaron entre los tecnosoles, seguidas del topsoil del DMO Tiwinza de CMC (TSC) con el topsoil del DMO Oeste de MLZ (TSO), y el topsoil del DMO Oeste de MLZ (TSO) con el suelo prístino, aunque estas correlaciones fueron moderadas. Las correlaciones restantes entre las muestras fueron bajas, lo que indica que la composición de sus comunidades es muy diferente.

La representación del mapa de calor de la distribución de géneros fúngicos destaca que el suelo prístino (PSP) fue la única muestra con varios géneros dominantes, siendo los más importantes *Archaeorhizomyces*, *Mortierella* y *Sphaerosporella* (Fig. 5A). *Mortierella* fue el género más común entre todas las muestras y también fue el único presente en porcentajes superiores al 1% en cada tipo de suelo. Aparte de las apariciones esporádicas de *Leptodontidium* en el topsoil del DMO Ciénega de CMC (TSD) o *Trichosporon* en el tecnosol maduro TCZ, las muestras de topsoil y tecnosol mostraron menos géneros comunes agrupados como "otros".

En la prueba de diferenciación ANOVA de dos vías, se mostró que los grupos correspondientes a "otros" no presentaban diferencias significativas entre sí, lo que indica una alta complejidad taxonómica (Fig. 5B). Solo el 7.1% de los géneros en tecnosol revegetado TCP fueron similares a los del suelo prístino, lo que representa una disminución con respecto al 10.3% de similitud presente en tecnosol maduro TCZ (Fig. 5C). Esta reducción se debió principalmente a la menor prevalencia de *Mortierella* en tecnosol revegetado TCP. En general, no se observaron cambios sustanciales, lo que sugiere que los géneros fúngicos clave del suelo prístino no desempeñan un papel dominante en el proceso de recuperación del suelo.

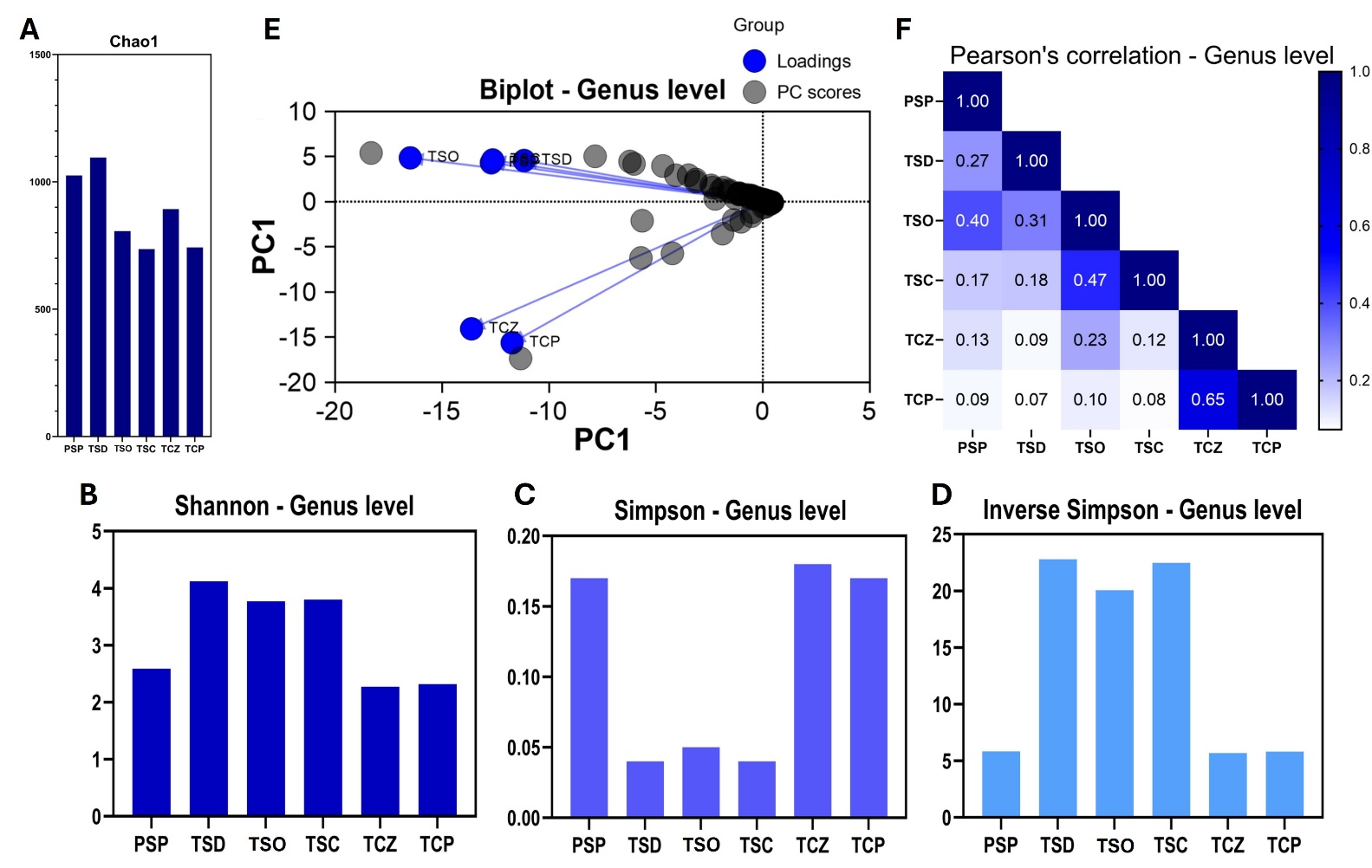


Figura 4. Diversidad fúngica en muestras de suelo. A: Índice Chao1. B: Índice de Shannon. C: Índice de Simpson. D: Índice de Simpson inverso. E: Gráfico Biplot del Análisis de Componentes Principales, PC1 representa los datos de abundancia. J: Correlación de Pearson. Donde PSP: Suelo prístino de MLZ. TSD: Topsoil del DMO Ciénega de CMC. TSO: Topsoil del DMO Oeste de MLZ. TSC: Topsoil del DMO Tiwinza de CMC. TCZ: Tecnosol maduro de MLZ. TCP: Tecnosol revegetado de MLZ.

Todos los índices de diversidad ecológica de hongos fueron, en general, inferiores a los observados en bacterias. Sin embargo, cabe destacar que las comunidades fúngicas de los topsoils y de los suelos prístinos mostraron una similitud ecológica más notable entre sí y forman un grupo separado de las muestras de tecnosol, como se revela en el caso de las comunidades bacterianas.

Un análisis comparativo de la composición bacteriana entre topsoil aireado y topsoils almacenados, indicado en la Fig. 6, muestra que en el topsoil aireado de MLZ (L‑01; pH 6.53) destaca un conjunto de bacterias que aprovechan bien los nutrientes liberados tras la aireación. Entre ellas, *Chryseobacterium*(22.6 %), *Saccharimonadales* (9.3 %) y *Flavihumibacter* (2.2 %), que son indicadores de un suelo suelto y bien oxigenado, donde la materia orgánica existente se descompone con rapidez, liberando nutrientes clave para las plantas y mejorando la estructura del terreno (Fierer & Jackson, 2006).

Los topsoils almacenados en los depósitos de MLZ y CMC mostraron un claro predominio de bacterias tolerantes a la acidez y con actividad desnitrificante; específicamente, se identificaron géneros como *Nitrosovibrio*, *Acidobacterium* y *Holophaga* que comprendieron entre el 20% y el 32% de la comunidad microbiana en estos suelos ácidos, con pH que varió desde 3.88 hasta 4.87.

**Diagrama, Esquemático

El contenido generado por IA puede ser incorrecto.**

Figura 5. Composición fúngica en muestras de suelo. A: Abundancia de lecturas a nivel de género. B: Gráfica de violín para el grupo "Otros", prueba de diferenciación ANOVA de dos vías. C: Comparación de la prevalencia del género fúngico principal (>1%) entre suelos prístinos y tecnosoles durante la restauración. Donde PSP: Suelo prístino de MLZ. TSD: Topsoil del DMO Ciénega de CMC. TSO: Topsoil del DMO Oeste de MLZ. TSC: Topsoil del DMO Tiwinza de CMC. TCZ: Tecnosol maduro de MLZ. TCP: Tecnosol revegetado de MLZ.

**Gráfico, Gráfico de barras

El contenido generado por IA puede ser incorrecto.**

Figura 6. Comparación de composición bacteriana entre topsoil aireado (L-01) y topsoils almacenados (TSO, TSC y TSD). Donde L-01: Topsoil aireado de MLZ. TSO: Topsoil delDMO Oeste de MLZ. TSC: Topsoil del DMO Tiwinza de CMC. TSD: Topsoil del DMO Ciénega de CMC.

**5. Conclusiones**

La identificación de la composición de microorganismos en suelos facilitará futuras aplicaciones, como: 1) Optimizar el manejo de enmiendas del suelo para diseñar suelos que promuevan la rápida recuperación de la vegetación y el desarrollo de comunidades microbianas específicas con funciones ecológicas esenciales. 2) Identificar microorganismos clave que sirven como bioindicadores del progreso de la recuperación microbiana, permitiendo un monitoreo eficiente de los esfuerzos de restauración. 3) Seleccionar microorganismos cultivables de interés, como aquellos especializados en la descomposición de materia orgánica o el ciclo de nutrientes, para acelerar procesos específicos en la restauración del

suelo.

Nuestros resultados mostraron que el almacenamiento prolongado del suelo orgánico (topsoil) en depósitos sin aireación altera sus propiedades fisicoquímicas y microbianas, volviéndolo más ácido (pH 3.9 – 4.7). Esto afecta negativamente su capacidad de fertilización y el crecimiento vegetal. Como alternativa se recomienda airear el topsoil previo a ser reutilizado en los procesos de cierre, mejorando sus propiedades fisicoquímicas y microbianas, incrementando el pH a condiciones ligeramente alcalinas (pH 7) y promoviendo la proliferación de microorganismos aerobios, fijadores de nitrógeno, degradadores de materia orgánica y solubilizadores de nutrientes.

Los tecnosoles maduros, demuestran un gran potencial para la restauración de suelos en el sector minero. Estos materiales presentan un pH moderadamente alcalino (7.7) y contienen microorganismos que son cruciales para la descomposición de lignocelulosa, la mineralización de nutrientes y la regeneración de la fertilidad del suelo.

Este estudio identificó géneros bacterianos específicos como *Bacteroides, Bradyrhizobium, Cellulomonas, Flavihumibacter, Flavobacterium, Geobacter, Nitrosococcus, Nitrosospira, Nitrosovibrio* y *Rhizobium*, los cuales pueden ser utilizados para mejorar la fertilidad de los suelos durante el cierre de componentes mineros.

En las áreas cerradas con tecnosol (tecnosol revegetado TCP), se observó una comunidad microbiana diversa, con géneros involucrados en la biorremediación de metales pesados y la degradación de compuestos orgánicos.

Es importante destacar que las comunidades microbianas de los suelos naturales (prístinos y topsoils) son significativamente diferentes de las encontradas en los tecnosoles. Esta distinción subraya la necesidad de considerar cuidadosamente el tipo de suelo y su manejo al diseñar estrategias de restauración, En particular, la selección de microorganismos y enmiendas debe adaptarse a las condiciones específicas de cada sitio, priorizando la emulación del suelo prístino local. Esto implica favorecer la incorporación de comunidades microbianas nativas del entorno.

Aunque los índices de diversidad fúngica fueron generalmente inferiores a los bacterianos, las comunidades fúngicas de topsoils y suelos prístinos mostraron mayor similitud entre sí que con los tecnosoles. Los géneros fúngicos clave del suelo prístino no mostraron un papel dominante en la recuperación del suelo en tecnosoles, lo que sugiere que la restauración fúngica podría tomar más tiempo o requerir enfoques específicos.

Este estudio sienta las bases para iniciar procesos de selección microbiana a nivel de laboratorio, con miras a su masificación en los volúmenes necesarios para ser aplicados en suelos antes de su aplicación en actividades de remediación. El siguiente paso consiste en seleccionar los microorganismos con mayor potencial, desarrollar medios adecuados para su propagación a escala, y realizar pruebas de campo que permitan verificar su eficacia en condiciones reales.

**6. Anexos**

**7. Referencias bibliográficas**

Adamczyk-Szabela, D., & Wolf, W. M. (2022). The Impact of Soil pH on Heavy Metals Uptake and Photosynthesis Efficiency in Melissa officinalis, Taraxacum officinalis, Ocimum basilicum. *Molecules*, *27*(15), 4671. https://doi.org/10.3390/molecules27154671

Bahram, M., Hildebrand, F., Forslund, S. K., Anderson, J. L., Soudzilovskaia, N. A., Bodegom, P. M., Bengtsson-Palme, J., Anslan, S., Coelho, L. P., Harend, H., Huerta-Cepas, J., Medema, M. H., Maltz, M. R., Mundra, S., Olsson, P. A., Pent, M., Põlme, S., Sunagawa, S., Ryberg, M., … Bork, P. (2018). Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature*, *560*(7717), 233–237. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0386-6

Booshehrian, A., Wan, R., & Su, X. (2020). Hydraulic variations in permafrost due to open-pit mining and climate change: a case study in the Canadian Arctic. *Acta Geotechnica*, *15*(4), 883–905. https://doi.org/10.1007/s11440-019-00786-x

Breed, M. F., Harrison, P. A., Blyth, C., Byrne, M., Gaget, V., Gellie, N. J. C., Groom, S. V. C., Hodgson, R., Mills, J. G., Prowse, T. A. A., Steane, D. A., & Mohr, J. J. (2019). The potential of genomics for restoring ecosystems and biodiversity. *Nature Reviews Genetics*, *20*(10), 615–628. https://doi.org/10.1038/s41576-019-0152-0

Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., Fierer, N., & Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(supplement\_1), 4516–4522. https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107

Cuevas-Reyes, P. (2010). Importancia de la resiliencia biológica como posible indicador del estado de conservación de los ecosistemas: implicaciones en los  planes de manejo y conservación de la biodiversidad. *Biológicas*, *12*(1), 1–7. https://ucipfg.com/Repositorio/MGAP/MGAP-10/SEMANA5/Lectura\_4Semana5.pdf

Farrell, H. L., Léger, A., Breed, M. F., & Gornish, E. S. (2020). Restoration, soil organisms, and soil processes: emerging approaches. *Restoration Ecology*, *28*(S4). https://doi.org/10.1111/rec.13237

Fedor, P. J., & Spellerberg, I. F. (2013). Shannon–Wiener Index. In *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.00602-3

Fierer, N., & Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(3), 626–631. https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103

Gangola, S., Joshi, S., Kumar, S., & Pandey, S. C. (2019). Comparative analysis of fungal and bacterial enzymes in biodegradation of xenobiotic compounds. In *Smart Bioremediation Technologies* (pp. 169–189). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818307-6.00010-X

Heredia Reto, P., Castillo Rogel, R., Palomino Lucano, G., Falen, J. L., Avellan Laguno, R. D., Zapata Vidaurre, K., Saavedra Febre, M., Reyes Calle, G., Zingg Rosell, J., Lopez Perez, J., Morán Rosillo, J., Mialhe, E., & Diringer, B. (2025). Assessing microbial diversity in open-pit mining: Metabarcoding analysis of soil and pit microbiota across operational and restoration stages. *PLOS ONE*, *20*(4), e0320923. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0320923

Herrera Herbert, J., & Pla Ortiz de Urbina, F. (2006). *Métodos de Minería a Cielo Abierto*. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas y Energía. https://doi.org/10.20868/UPM.book.10675

Jost, L. (2007). PARTITIONING DIVERSITY INTO INDEPENDENT ALPHA AND BETA COMPONENTS. *Ecology*, *88*(10), 2427–2439. https://doi.org/10.1890/06-1736.1

Li, M., He, P., Guo, X.-L., Zhang, X., & Li, L.-J. (2021). Fifteen-year no tillage of a Mollisol with residue retention indirectly affects topsoil bacterial community by altering soil properties. *Soil and Tillage Research*, *205*, 104804. https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104804

Liang, J.-L., Liu, J., Jia, P., Yang, T., Zeng, Q., Zhang, S., Liao, B., Shu, W., & Li, J. (2020). Novel phosphate-solubilizing bacteria enhance soil phosphorus cycling following ecological restoration of land degraded by mining. *The ISME Journal*, *14*(6), 1600–1613. https://doi.org/10.1038/s41396-020-0632-4

Liddicoat, C., Krauss, S. L., Bissett, A., Borrett, R. J., Ducki, L. C., Peddle, S. D., Bullock, P., Dobrowolski, M. P., Grigg, A., Tibbett, M., & Breed, M. F. (2022). Next generation restoration metrics: Using soil eDNA bacterial community data to measure trajectories towards rehabilitation targets. *Journal of Environmental Management*, *310*, 114748. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114748

Marco, D. (2010). Metagenomics: Theory, Methods and Applications. In *BOOK REVIEWS INTERNATIONAL MICROBIOLOGY* (Vol. 13). Caister Acad. Press Norfolk. http://www.genomesonline.org],

Martínez-Manchego, L., Sarmiento-Sarmiento, G., & Bocardo-Delgado, E. (2021). Especies vegetales nativas con potencial para la fitorremediación de suelos alto andinos contaminados por residuos de actividad minera. *Bioagro*, *33*(3), 161–170. https://doi.org/10.51372/bioagro333.2

Ministerio del Ambiente (MINAM). (2014). *Guía para el Muestreo de Suelos: Resolución Ministerial N.o 085‑2014‑MINAM*. https://www.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2018/07/GUIA-PARA-EL-MUESTREO-DE-SUELO.pdf

Miransari, M. (2011). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *89*(4), 917–930. https://doi.org/10.1007/s00253-010-3004-6

Morales, A. L., & Domas, M. H. (2020). *Guía metodológica de cierre de minas*. https://repositorio.cepal.org/server/api/core/bitstreams/766a85c7-5ac4-4cd4-874a-f06c6c2060c6/content

Newsome, L., & Falagán, C. (2021). The Microbiology of Metal Mine Waste: Bioremediation Applications and Implications for Planetary Health. *GeoHealth*, *5*(10). https://doi.org/10.1029/2020GH000380

Nkongolo, K. K., Spiers, G., Beckett, P., & Narendrula-Kotha, R. (2022). Effects of Phytoremediation on Microbial Biomass, Composition, and Function in a Sulphide-Rich Tailing From a Metal-Contaminated Region. *Frontiers in Environmental Science*, *10*. https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.908633

Quiroz-Mojica, L. J., Daza-Mendoza, M. M., Díaz-Muegue, L. C., Melo-Rios, A. E., & Peñuela-Mesa, G. A. (2021). Efecto de biochar, micorrizas arbusculares y Guazuma ulmifolia, en la rehabilitación de suelos mineros. *REVISTA TERRA LATINOAMERICANA*, *39*. https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.709

Ren, M., Zhang, Z., Wang, X., Zhou, Z., Chen, D., Zeng, H., Zhao, S., Chen, L., Hu, Y., Zhang, C., Liang, Y., She, Q., Zhang, Y., & Peng, N. (2018). Diversity and Contributions to Nitrogen Cycling and Carbon Fixation of Soil Salinity Shaped Microbial Communities in Tarim Basin. *Frontiers in Microbiology*, *9*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00431

Rivera-Urbalejo, A. P., Vázquez, D., Fernández Vázquez, J. L., Rosete Enríquez, M., Cesa-Luna, C., Morales-García, Y. E., Muñoz Rojas, J., & Quintero Hernández, V. (2021). Aportes y dificultades de la metagenómica de suelos y su impacto en la agricultura. *Acta Biológica Colombiana*, *26*(3), 449–461. https://doi.org/10.15446/abc.v26n3.85760

Sancho, F., Sebastián, V., Garrido-Allepuz, C., Lezcano, J. M., Acosta, Á., Garayar, M., & Delvasto, P. (2022). La metagenómica como técnica novedosa para el análisis de impactos ambientales por efluentes y el seguimiento en el tiempo de la rehabilitación del suelo en zonas mineras desde una perspectiva microbiológica integral. *Revista Minería*, *539*, 8–27. https://revistamineria.com.pe/pageflipx/mineria/539/8/

Schmid, C. A. O., Reichel, R., Schröder, P., Brüggemann, N., & Schloter, M. (2020). 52 years of ecological restoration following a major disturbance by opencast lignite mining does not reassemble microbiome structures of the original arable soils. *Science of The Total Environment*, *745*, 140955. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140955

Simpson, E. H. (1949). Measurement of Diversity. *Nature*, *163*(4148), 688–688. https://doi.org/10.1038/163688a0

Sun, J., Huang, J., Ding, X., & Wang, P. (2016). Efficient Enantioselective Biocatalytic Production of a Chiral Intermediate of Sitagliptin by a Newly Filamentous Fungus Isolate. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *180*(4), 695–706. https://doi.org/10.1007/s12010-016-2125-5

Tibbett, M. (2010). Large-scale mine site restoration of Australian eucalypt forests after bauxite mining: soil management and ecosystem development. In *Ecology of industrial pollution* (pp. 309–326).

Walker, L. R. (2011). Integration of the study of natural and anthropogenic disturbances using severity gradients. *Austral Ecology*, *36*(8), 916–922. https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2011.02238.x

Waterhouse, B. R., Adair, K. L., Boyer, S., & Wratten, S. D. (2014). Advanced mine restoration protocols facilitate early recovery of soil microbial biomass, activity and functional diversity. *Basic and Applied Ecology*, *15*(7), 599–606. https://doi.org/10.1016/j.baae.2014.09.001

Watson, C. D., Gardner, M. G., Hodgson, R. J., Liddicoat, C., Peddle, S. D., & Breed, M. F. (2022). Global meta-analysis shows progress towards recovery of soil microbiota following revegetation. *Biological Conservation*, *272*, 109592. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2022.109592

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). AMPLIFICATION AND DIRECT SEQUENCING OF FUNGAL RIBOSOMAL RNA GENES FOR PHYLOGENETICS. In *PCR Protocols* (pp. 315–322). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1

Yáñez-Vargas Apolinar. (2008). Impacto ambiental y metodologías de análisis. *BIOCYT*, *1*(2), 7–15. http://www.iztacala.unam.mx/biocyt

**Datos de los autores**

**Gabriela Palomino Lucano**

Gabriela es Ingeniera Sanitaria por la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI) y egresada de la Maestría en Ingeniería de Recursos Hídricos por la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM). Está certificada como Project Management Professional (PMP®) y Risk Management Professional (PMI-RMP®) por el Project Management Institute (PMI), y cuenta con formación especializada en cierre de minas y sostenibilidad por el Australian Institute of Mining and Metallurgy (AusIMM).

Con una trayectoria de más de 17 años en el sector minero, ha liderado proyectos de gestión ambiental y cierre de minas en diversas unidades operativas de Buenaventura. Actualmente se desempeña como Jefa Corporativa de Proyectos Ambientales, desde donde impulsa estudios clave y lidera iniciativas de investigación e innovación orientadas a la gestión ambiental y de cierre de minas.

**Jimmy López Pérez**

Biotecnólogo de la Universidad Nacional del Santa, Ancash. MSc en Biotecnología Molecular por la Universidad Nacional de Tumbes. Ha participado como equipo técnico y coordinador en diversos proyectos de investigación y servicios biotecnológicos para empresas como ECOSAC, Corporación Miraflores S.A., STEVIA ONE Perú y Agroaurora S.A.C. de Coazúcar Perú. Desde el 2021 participa como investigador en la recuperación de paisajes mineros y prevención de la formación de aguas ácidas en el marco de un convenio con Compañía de Minas Buenaventura.

**Benoit Diringer**

Franco-peruano. MSc y PhD de la Universidad de Paris Ciencias y Letras (PSL) sobre biotecnologías aplicadas a la producción y conservación de organismos acuáticos. Investigador RENACYT que ha participado en numerosos proyectos de tipo Innóvate, FONDECYT, PNIPA y Canon relacionados con la aplicación de biotecnologías clásicas y moleculares aplicados a la acuicultura, agricultura, conservación ambiental, biorremediación, salud humana y animal. Actualmente es representante legal de la empresa de biotecnología INCA’Biotec SAC, y profesor principal de la Maestría de biotecnología molecular de la Universidad Nacional de Tumbes. Viene realizando asesorías técnico-científicas en Perú, Ecuador, Brasil, Tailandia, Vietnam, Madagascar y España. Desde el 2021 participa como consultor e investigador en la recuperación de paisajes mineros y prevención de la formación de aguas ácidas en el marco de un convenio con Compañía de Minas Buenaventura.