

Cuantificación de la tolerancia al cobre y al sulfato en dos especies leñosas de Chile central

Quantification of tolerance to copper and sulphate in two woody species of central Chile

ROSANNA GINOCCHIO

Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D Santiago, Chile. E-mail: erginocc@genes.bio.puc.cl

RESUMEN

El aumento de elementos químicos tóxicos en los suelos de los ambientes terrestres debido a actividades humanas se está volviendo cada vez más importante en el mundo. En Chile, la industria minera del cobre ha liberado al ambiente grandes volúmenes de desechos sólidos (relaves), ricos en metales pesados y sales, entre las Regiones III y VII, generando problemas muy importantes de contaminación del suelo. Estos desechos, acumulados en grandes embalses, son altamente desfavorables para la vida vegetal debido a las altas concentraciones de metales pesados, principalmente de cobre, y de sales sulfatadas. Estudios realizados en diversas partes del mundo indican que algunas especies vegetales son capaces de colonizar y de establecerse naturalmente en estas áreas, debido a su gran tolerancia al exceso de estos elementos en el ambiente. Como en nuestro país no se dispone de información que permita determinar qué especies nativas podrían ser tolerantes a este tipo de estrés ambiental, en este trabajo se cuantificó la capacidad de germinación y sobrevivencia de plántulas de dos especies leñosas colonizadoras nativas de Chile central (*Senna candoliana* y *Trevoa trinervis*), en sustratos con concentraciones crecientes de iones cobre y sulfato, por medio de experimentos de laboratorio. Los resultados indican que *S. candoliana* sería una especie leñosa más tolerante que *T. trinervis* a concentraciones elevadas de iones cobre y sulfato en el sustrato, debido a que: (1) la germinación de *T. trinervis* se redujo 5 veces más que la de *S. candoliana* con un aumento en la concentración de iones cobre, (2) la mortalidad de las plántulas fue 2 veces más alta en *T. trinervis* que en *S. candoliana*, al aumentar la dosis de iones cobre y fue 5 veces mayor al aumentar la dosis de iones sulfato, sobreviviendo un porcentaje muy bajo de las plántulas de *T. trinervis*, y (3) aunque el crecimiento radical se vio reducido en las plántulas de *S. candoliana* expuestas a concentraciones altas de iones cobre, el vástago fue capaz de crecer normalmente.

Palabras clave: estrés, toxicidad, revegetación, desechos mineros, matorral.

ABSTRACT

Increase of toxic chemical compounds in soils due to human activities is becoming very important in the world. In Chile, mine copper industry has released to the environment a big amount of solid wastes (tailings) containing high concentrations of metals and salts from IIIth to VIIth political Regions, generating important soil contamination problems. Copper mine tailings are disposed in large dams and they are very unfavorable to plant life because of their high contents of heavy metals, mainly copper, and sulphate salts. Studies done in several abandoned copper mine spoils through the world have shown that some plant species are able to colonize and establish in this areas, because of their high tolerance to toxic levels of these elements in the environment. As we do not have enough information about tolerance of Chilean native plant species to this environmental stress, in this paper I quantified, through laboratory experiments, germination capacity and seedling survival of two native pioneer woody species from central Chile (*Senna candoliana* and *Trevoa trinervis*), in substrates having increasing concentrations of copper and sulphate ions. Results showed that *S. candoliana* may be more tolerant to high concentrations of copper and sulphate ions than *T. trinervis*, because: (1) in *T. trinervis* germination was reduced 5 times more than in *S. candoliana* with increased copper ion concentrations, (2) seedling mortality was 2 times higher in *T. trinervis* than in *S. candoliana* with increased copper ion concentrations and 5 times higher with increased sulphate ion concentrations, leading to a low seedling survival percentage in *T. trinervis*, and (3) although root growth was reduced in seedlings of *S. candoliana* grown in high copper ion concentrations, shoot growth did not show important effects.

Key words: stress, toxicity, revegetation, mine-spoils, matorral.

INTRODUCCION

Aunque el exceso de elementos minerales en el suelo de un ambiente determinado puede tener un origen natural, de tipo geológico o biótico (acumulación de desechos orgá-

nicos), o un origen antrópico, representado por diversas actividades industriales (Banister 1976), actualmente el aumento de elementos tóxicos en los sustratos debido a actividades humanas se está volviendo cada vez más importante, por la rapidez con que

se liberan grandes volúmenes de éstos al ambiente.

De todas las actividades industriales, la minería metálica ha sido una de las más contaminantes y una de las más perjudiciales para el medio ambiente (Bradshaw 1983), ya que genera un gran volumen de desechos sólidos (lamas y/o arenas de relave) a partir de los procesos de concentración del mineral (Daubenmire 1974, Reith 1986), los cuales son acumulados en forma permanente en grandes embalses (Ellis 1989). Las lamas y/o arenas de relave están constituidas por material particulado rico en elementos tóxicos, como son los metales pesados (Cu, Pb, Zn, Hg) y las sales (Benhnke 1976, Bradshaw 1983, Marshal 1982), lo que las hace altamente contaminantes. Además, se caracterizan por carecer de estructura, por poseer una textura arenosa-limosa y por contener muy poca materia orgánica (Benhnke 1976, Bell & Ungar 1981, Marshal 1982, Bradshaw 1983, Reith 1986, Ashby 1987, Baig 1992).

La ausencia completa de suelo y el desbalance de nutrientes (altas concentraciones de metales pesados y bajo contenido de materia orgánica), a menudo combinado con un pH muy bajo, hacen de las arenas de relave un sustrato altamente desfavorable para la vida vegetal (Dean et al. 1973, Daubenmire 1974, Baudo 1987, Davies 1987, Eijsackers 1987, Larcher 1995), limitando el establecimiento de las plántulas y el crecimiento de la mayoría de las especies vegetales (Bradshaw & Chadwick 1980, Bradshaw 1983, Larcher 1995). Sin embargo, estudios realizados en desechos sólidos generados por diversos tipos de minería, en distintas partes del mundo, han descrito la ocurrencia de procesos muy lentos de revegetación natural, indicando que algunas especies vegetales son capaces de colonizar y de establecerse en estas áreas (Antonovics 1975, Bradshaw 1975, Jonescu 1979, Gibson 1982, Johnson et al. 1982, Baig 1992). La presencia de estas especies vegetales se explicaría por la tolerancia constitutiva a concentraciones altas de metales pesados (McNaughton et al. 1974, Fiedler 1985) o por la selección de ecotipos tolerantes (Bradshaw 1975, Antonovics 1975, Bradshaw 1984, Baker 1987).

Chile es uno de los países mineros más importantes del mundo, concentrándose esta

actividad en las zonas norte y central del país (Toledo & Zapater 1989). Estudios realizados por la Comisión Nacional de Medio Ambiente (CONAMA) han determinado que los problemas de contaminación del suelo generados por los embalses de relaves de las actividades mineras constituyen variables muy importantes, incluso a nivel regional, particularmente entre la III y VII Región del país (Espinoza et al. 1991a-f). En esta área existen aproximadamente 655 embalses de relaves, encontrándose la mayoría de ellos en desuso (Sernageomin 1989, 1990a, 1990b). Aunque la superficie total ocupada por los embalses es extremadamente pequeña en relación a la superficie aproximada de estas 5 regiones (192.107 ha versus 186.887 Km²), su impacto ambiental como focos de contaminación de metales pesados y de algunas sales ha sido muy grande, debido a los procesos de erosión eólica, arrastre de material por lluvias intensas, derrumbes provocados por fuertes sismos y por su estabilidad estática deficiente (Sernageomin 1989, 1990a, 1990b). La formación de una cubierta vegetal sobre estos sustratos, ya sea a través de la revegetación natural por procesos sucesionales primarios o por la introducción artificial de especies nativas, ayudaría en forma efectiva a minimizar la potencialidad de los problemas de contaminación de los suelos, al mejorar la estabilidad de los embalses y al extraer los metales pesados concentrados en el sustrato, acumulándolos en su biomasa (Leavitt et al. 1979, Baudo 1987).

En nuestro país, a pesar de que los problemas de contaminación del suelo generados por los embalses de relaves de las actividades mineras constituyen variables muy importantes en la mayor parte del territorio norte-central, aún son muy escasos los estudios en los que se ha intentado determinar el efecto que este tipo de contaminación tendría en el crecimiento, sobrevivencia y reproducción de las especies vegetales nativas (ej: Gutiérrez & Hoffmann 1991). Por ello, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de diferentes concentraciones de iones cobre y sulfato en el sustrato sobre la capacidad de germinación, sobrevivencia y crecimiento de tallos y raíces de dos especies arbustivas nativas colonizadoras del matorral de Chile central (*Senna candoliana* y *Trevoa*

trinervis), a través de experimentos de laboratorio.

Los resultados de investigaciones de este tipo permitirán detectar especies nativas tolerantes a condiciones de estrés ambiental por toxicidad de metales pesados y sales, las que, al ser utilizadas en programas de revegetación, serán capaces de establecerse, crecer y reproducirse normalmente en los embalses de desechos mineros abandonados de la zona norte-central de nuestro país, reduciendo en el futuro los problemas de contaminación del suelo generados por la gran minería.

MATERIALES Y METODOS

Especies en estudio

Se eligió *Senna candoliana* (quebracho) y *Trevoa trinervis* (tebo) por su uso potencial en programas de recuperación de embalses de relaves, debido a que constituyen especies sucesionales tempranas en los ambientes naturales de la zona central de Chile (Donoso 1978, Armesto & Pickett 1985), están adaptadas a condiciones de sequía extrema (Hoffman 1989, Montenegro et al. 1989), son especies capaces de fijar nitrógeno (Donoso 1978, Rundel & Neel 1978) y *S. candoliana* sería capaz de mantener un porcentaje alto de germinación y de sobrevivir al ser plantada en tranques de relave de minas de cobre (Gutiérrez & Hoffmann 1991).

Ensayos de germinación

Semillas de ambas especies fueron sometidas a tratamientos pregerminativos según Cabello (1990), estimada su viabilidad por el método del cloruro de 2, 3, 5 trifenil tetrazolio y colocadas sobre un sustrato esterilizado de vermiculita-arena (1:1), contenido en bolsas negras de 22 x 22 cm. Se sembraron 20 semillas de cada especie por bolsa, las que se colocaron aleatoriamente en un fitotrón con condiciones controladas de fotoperíodo (14 horas luz) y temperatura (25° C). Se aplicaron tres tratamientos (iones cobre, iones sulfato y ambos), con cuatro dosis cada uno, por triplicado, utilizando la solución nutritiva Hoagland completa (Hoagland 1948), suplementada con $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ como fuente de Cu^{2+}

y K_2SO_4 como fuente de SO_4^{2-} (Tabla 1), cuidando de mantener el pH de las soluciones en aproximadamente 6,5. Las dosis utilizadas reflejaron el rango de concentraciones posibles de encontrar en los suelos de la zona norte-central de Chile, desde niveles normales (solución nutritiva Hoagland completa) a los niveles de toxicidad presentes en los relaves abandonados de minas de cobre, donde se ha medido hasta 2.000 ppm de cobre (Freedman & Hutchinson 1980, Humphreys & Nicholls 1984, Borgegard 1989, Gutiérrez & Hoffmann 1991) y 3.300 ppm de sulfatos (Gutiérrez & Hoffmann 1991).

Las bolsas fueron regadas cada 2 días con 125 ml de las soluciones nutritivas experimentales respectivas, lavando cada 7 días con agua destilada. Cada 2 días se registró el número de semillas germinadas por bolsa y el número de plántulas que murió, hasta que no se registró nuevas germinaciones (45 días). Se calculó el número promedio de días para germinar como el promedio ponderado del número de semillas germinadas en cada una de las fechas controladas, hasta que no se observó más germinaciones.

Debido a los bajos n experimentales utilizados (20 semillas por bolsa) existió una gran complejidad en las variables respuestas

TABLA 1

Contenido de iones cobre y sulfato en los diferentes tratamientos experimentales utilizados. SNHC: solución nutritiva Hoagland completa

Copper and sulphate ionic contents in different experimental treatments done. SNHC: Hoagland complete nutritive solution

Tratamiento	Contenido de iones
Cobre	
1	SNHC
2	SNHC + 0,5 ppm Cu^{2+}
3	SNHC + 50 ppm Cu^{2+}
4	SNHC + 200 ppm Cu^{2+}
Sulfato	
1	SNHC
2	SNHC + 800 ppm SO_4^{2-}
3	SNHC + 1.800 ppm SO_4^{2-}
4	SNHC + 2.800 ppm SO_4^{2-}
Ambos	
1	SNHC
2	SNHC + 0,5 ppm Cu^{2+} + 800 ppm SO_4^{2-}
3	SNHC + 50 ppm Cu^{2+} + 1.800 ppm SO_4^{2-}
4	SNHC + 200 ppm Cu^{2+} + 2.800 ppm SO_4^{2-}

observadas dentro de cada tratamiento, por lo que se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas utilizando el número total de semillas germinadas como fracción del total de semillas utilizadas en las tres réplicas ($n = 60$) y el total de plántulas muertas como fracción del total de plántulas generadas por tratamiento. Se utilizó la prueba de los signos para determinar diferencias en la magnitud de las respuestas entre las dos especies estudiadas para cada uno de los tratamientos, en cuanto a frecuencia de germinación y de mortalidad y días promedio para germinar (Steel & Torrie 1985, Siegel & Castellan 1988). Se calcularon coeficientes de correlación de Spearman para medir la correspondencia entre la frecuencia de germinación, el número promedio de días para germinar y la frecuencia de mortalidad de las plántulas y las distintas dosis de iones cobre, sulfato y la combinación de ellos (Siegel & Castellan 1988).

El análisis estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico Statistica para windows (StatSoft 1993).

Ensayos con plántulas

Al cabo de 45 días, cuando no se observó un aumento en el número de semillas germinadas por bolsa, se dejó sólo 4 plántulas de *S. candoliana* por bolsa, siendo trasladadas y colocadas aleatoriamente en un invernadero con las mismas condiciones del fitotrón. No se realizaron ensayos con plántulas de *Trevoa trinervis* por los bajos porcentajes de germinación obtenidos. Luego de ser trasladadas a invernadero, se siguió regando las bolsas cada 2 días con 200 ml de las soluciones de tratamiento correspondientes, con lavados de agua destilada cada 7 días, durante 3 meses. Al cabo de este tiempo se removieron todas las plántulas y las raíces fueron lavadas con agua destilada para eliminar el sustrato adherido a ellas. El follaje de una de las plántulas fue utilizado para determinar el contenido total de clorofila según el método descrito por Harbone (1973). A las 3 plántulas restantes se les midió la longitud del tallo y de la raíz principal, parámetros que permitieron calcular Índices de Tolerancia (IT) de estas estructuras a distintas concentraciones de cobre y de sulfato, calculados, según Baker (1984), como:

$$IT = \frac{\text{Longitud estructura Dosis X}}{\text{Longitud estructura Dosis 1}} \cdot 100$$

Luego de ser medido, cada individuo fue separado en tallo y raíz, secado en estufa a 50° C por 72 h, con el fin de determinar la biomasa (peso seco) de las distintas estructuras. A partir de los datos de biomasa se calculó la proporción raíz/vástago para cada individuo.

Se realizaron análisis estadísticos ANDEVA unifactoriales para probar, por separado, las variables respuesta, contenido total de clorofila y biomasa de los vástagos y de las raíces (Steel & Torrie 1985). Los factores incluidos en los modelos lineales aleatorios fueron: cobre, con cuatro niveles o dosis, sulfato, con cuatro niveles y ambos iones, con cuatro niveles. En ambos casos se utilizó la prueba a posteriori de Tukey (Steel & Torrie, 1985). Se utilizó la prueba de χ^2 de Bondad de Ajuste para probar significancia en la tolerancia de los vástagos y de las raíces a los distintos tratamientos (Siegel & Castellan 1988).

RESULTADOS

Ensayos de germinación

La frecuencia de germinación fue mayor en *Senna candoliana* que en *Trevoa trinervis*, para todos los tratamientos (prueba de los signos, $z = 1,5$; $p = 0,133614$, para los 3 tratamientos, Figura 1), a pesar de que la viabilidad de las semillas fue similar en ambas especies (52,5% y 57,5% para *S. candoliana* y *T. trinervis*, respectivamente). Las frecuencias de germinación de *S. candoliana* para las dosis 1 de todos los tratamientos (56%, en todos los casos; ver Figura 1) se correspondieron con el porcentaje de viabilidad determinado para esta especie (52,5%), mientras que éstas fueron menores en *T. trinervis* (13% en todos los casos, según Figura 1, versus 57,5%), lo que indicaría que existe algún mecanismo de latencia en *T. trinervis*, que no fue suprimido por el tratamiento pregerminativo aplicado a las semillas antes de su siembra.

Al calcular las correlaciones ordenadas por rango de Spearman, se observó una co-

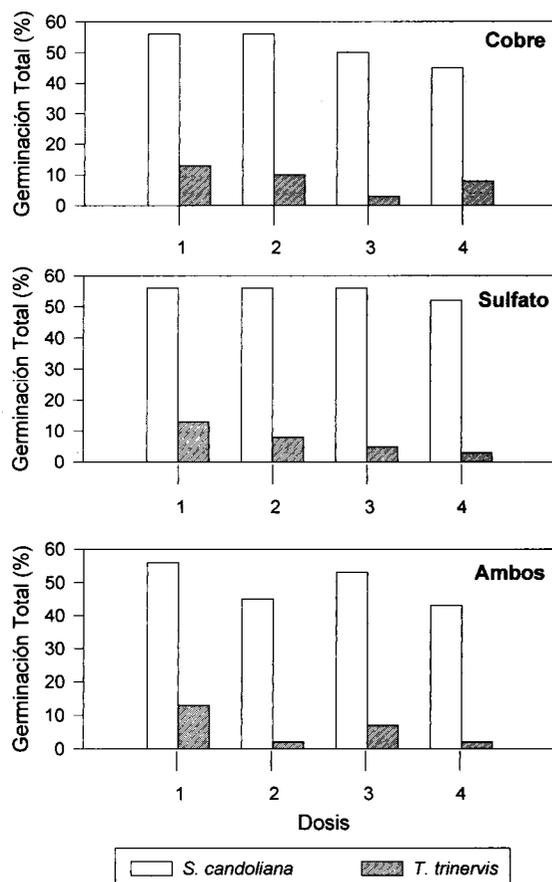


Fig. 1: Porcentaje total de germinación acumulada para semillas de *Senna candoliana* y *Trevoa trinervis* bajo distintos tratamientos experimentales.

Total accumulated germination percentage for *Senna candoliana* and *Trevoa trinervis* seeds under different experimental treatments.

relación negativa significativa entre la frecuencia de germinación y la dosis de iones cobre tanto en *S. candoliana* como en *T. trinervis* ($r_s = -0,95$; $p = 0,050317$, ambas), disminuyendo en un 77% en *T. trinervis* y en un 21% en *S. candoliana*, al considerar sólo las dosis 1 y 4 (Figura 1). También se detectó una correlación negativa significativa entre la frecuencia de germinación y la dosis de iones sulfato en *T. trinervis* ($r_s = -1,0$, $p < 0,0001$). No hubo correlaciones significativas entre la frecuencia de germinación y la dosis de iones sulfato en *S. candoliana* ($r_s = -0,78$; $p = 0,2254$) y entre el porcentaje de germinación y la dosis de ambos iones en *T. trinervis* ($r_s = -0,63$; $p = 0,3675$) y en *S. candoliana* ($r_s = -0,80$; $p = 0,200$), lo que

indica que la frecuencia de germinación fue independiente de la dosis.

No se encontraron correlaciones significativas entre el número promedio de días para germinar y la dosis, para ninguno de los tratamientos, en ambas especies (cobre: $r_s = 0,40$ y $p = 0,60000$ *S. candoliana*, $r_s = -0,74$ y $p = 0,26213$ *T. trinervis*; sulfato: $r_s = 0,95$ y $p = 0,051317$ *S. candoliana*, $r_s = -0,40$ y $p = 0,60000$ *T. trinervis*; ambos: $r_s = -0,40$ y $p = 0,60000$ las dos especies; Figura 2). Sin embargo, las semillas de *T. trinervis* demoraron más tiempo en germinar que las de *S. candoliana* (prueba de los signos, cobre y ambos: $z = 0,5$ y $p = 0,61708$; sulfato: $z = 1,5$ y $p = 0,133614$).

Se observó una correlación positiva significativa entre la frecuencia de mortalidad y la dosis de iones cobre en ambas especies ($r_s = 1,0$; $p < 0,0001$ en ambos casos; Figura 3), aumentando un 168% en *T. trinervis* y un 83% en *S. candoliana*, considerando sólo las dosis 1 y 4. También se detectó una correlación positiva significativa con la dosis de

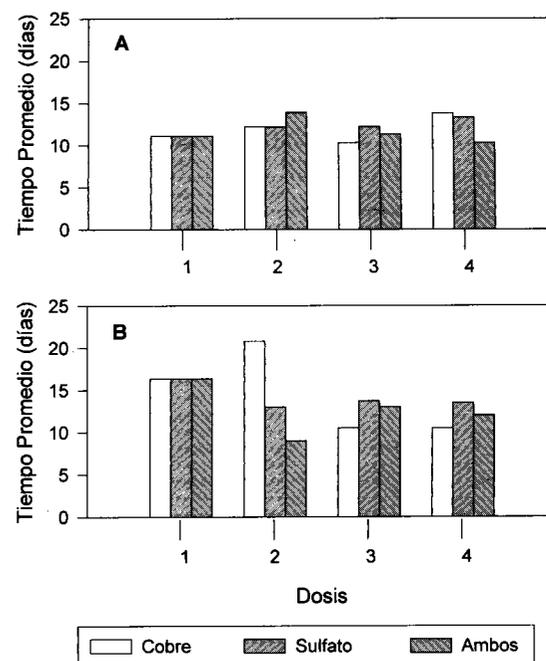


Fig. 2: Tiempo promedio para germinar de las semillas de *Senna candoliana* (A) y *Trevoa trinervis* (B) bajo los distintos tratamientos experimentales.

Mean time to germinate for *Senna candoliana* (A) and *Trevoa trinervis* (B) seeds under different experimental treatments.

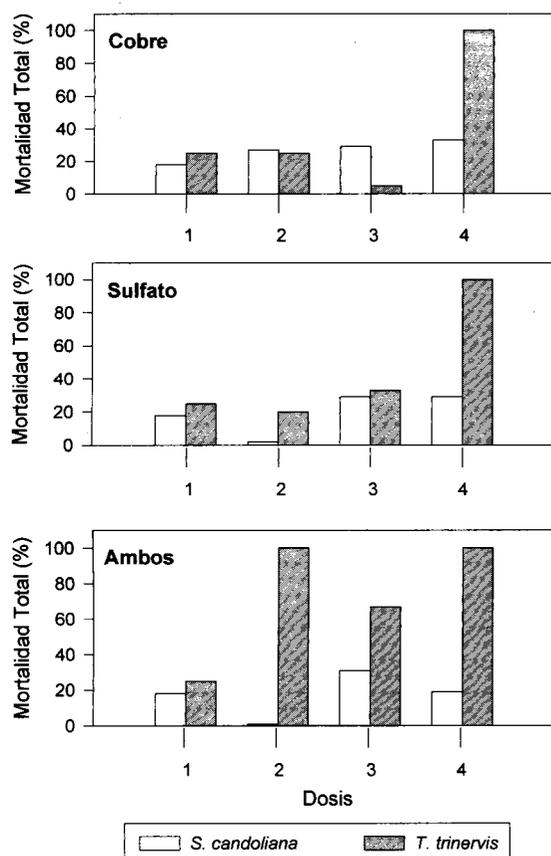


Fig. 3: Porcentaje total de mortalidad acumulada para plántulas recién generadas de *Senna candoliana* y *Trevoa trinervis* bajo diferentes tratamientos experimentales.

Total accumulated mortality percentage for recently generated seedlings of *Senna candoliana* and *Trevoa trinervis* under different experimental treatments.

sulfato en ambas especies ($r_s = 0,95$, $p < 0,05$ en ambos casos), aumentando un 300% en *T. trinervis* y en 61% en *S. candoliana*, considerando sólo las dosis 1 y 4 (Figura 3). No se encontraron correlaciones significativas entre la frecuencia de mortalidad y la dosis de iones sulfato en *S. candoliana* y entre la frecuencia de mortalidad y la dosis de ambos iones en las dos especies analizadas, aunque las frecuencias de mortalidad fueron mayores en *T. trinervis* que en *S. candoliana* (prueba de los signos, cobre: $z = 0,5$ y $p = 0,617075$; sulfato y ambos: $z = 1,5$ y $p = 0,133614$; Figura 3).

Ensayos con plántulas de *Senna candoliana*

No se detectaron diferencias significativas en el contenido total de clorofila para ninguno

de los factores (Tabla 2; Figura 4), sugiriendo que el vástago de las plántulas sometidas a los distintos tratamientos no vio alterada su función fotosintética a nivel de los pigmentos. No se observó clorosis en las hojas de las plántulas de los distintos tratamientos, las que presentaron una coloración verde normal en comparación con la dosis 1 de los tratamientos.

La tolerancia de los vástagos, reflejada a través de los índices de tolerancia, no fue afectada significativamente por ninguno de los tratamientos (χ^2 Bondad de ajuste, cobre: $\chi^2_{(0,05;3)} = 0,09$; sulfato: $\chi^2_{(0,05;3)} = 3,78$; ambos: $\chi^2_{(0,05;3)} = 1,47$), mientras que la de las raíces fue afectada significativamente por todos los factores (χ^2 Bondad de Ajuste, cobre: $\chi^2_{(0,05;3)} = 10,91$; sulfato: $\chi^2_{(0,05;3)} = 8,49$; ambos: $\chi^2_{(0,05;3)} = 9,07$; Tabla 3). Aumentos en la dosis de cobre disminuyeron los índices de tolerancia de las raíces, mientras que la dosis de sulfato y ambos iones juntos, aumentaron los índices o se mantuvieron en el 100% (Tabla 3). En general, las concentraciones intermedias de iones sulfato y de la mezcla de ambos iones (dosis 2 y 3) muestra-

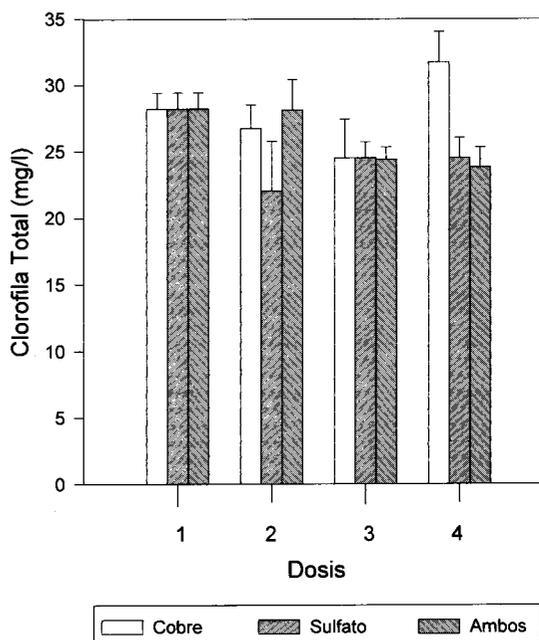


Fig. 4: Concentración de clorofila total en hojas de plántulas de *Senna candoliana* sometidas a distintos tratamientos experimentales ($\bar{x} \pm e.e.$).

Total chlorophyll concentration in seedlings leaves of *Senna candoliana* under different experimental treatments ($\bar{x} \pm s.e.$).

TABLA 2

Tabla ANDEVA para la variable respuesta contenido total de clorofila para los tratamientos en estudio

ANOVA table for response variable total chlorophyll content for the treatment variables under study

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F	P
Cobre	3	132,66	44,22	2,63	0,0785
Sulfato	3	41,30	13,77	0,82	0,4992
Ambos Iones	3	110,59	36,86	2,19	0,1209
Error	20	336,72	16,83		

TABLA 3

Indices de tolerancia de las raíces y de los vástagos, biomasa radical (peso seco), biomasa del vástago (peso seco) y proporción raíz/vástago en plántulas de *Senna candoliana* sometidas a los distintos tratamientos experimentales ($\bar{x} \pm EE$). Letras diferentes dentro de cada tratamiento indican diferencias significativas, según prueba ANDEVA

Tolerance indexes of root and shoot, root biomass (dry weight), shoot biomass (dry weight) and root/shoot proportion in *Senna candoliana* seedlings under different experimental treatments ($\bar{x} \pm SE$). Different letter indicate significant differences inside each treatment, as ANOVA test indicated

Tratamiento	Índice Tolerancia Raíces (%)	Índice Tolerancia Vástago (%)	Biomasa Radical (g)	Biomasa Vástago (g)	Proporción Raíz/Vástago
Cobre					
1	100	100	0.10 ± 0.013 a	0.46 ± 0.090 a	0.23 ± 0.015 a
2	79 ± 11.8	102 ± 6.8	0.10 ± 0.012 a	0.50 ± 0.019 a	0.19 ± 0.023 a
3	105 ± 15.6	99 ± 6.5	0.08 ± 0.013 a	0.47 ± 0.073 a	0.18 ± 0.006 a
4	75 ± 13.7	98 ± 5.8	0.04 ± 0.022 b	0.30 ± 0.127 a	0.18 ± 0.025 a
Sulfato					
1	100	100	0.10 ± 0.013 a	0.46 ± 0.090 a	0.23 ± 0.015 a
2	87 ± 21.5	97 ± 11.3	0.09 ± 0.024 a	0.43 ± 0.115 a	0.20 ± 0.018 a
3	126 ± 11.0	112 ± 9.0	0.14 ± 0.009 b	0.63 ± 0.019 b	0.23 ± 0.017 a
4	98 ± 17.9	85 ± 9.1	0.10 ± 0.009 a	0.42 ± 0.043 a	0.24 ± 0.038 a
Ambos					
1	100	100	0.10 ± 0.013 a	0.46 ± 0.090 a	0.23 ± 0.015 a
2	121 ± 13.2	107 ± 7.9	0.13 ± 0.018 a	0.54 ± 0.085 a	0.25 ± 0.013 a
3	121 ± 12.5	107 ± 6.4	0.14 ± 0.022 a	0.55 ± 0.078 a	0.26 ± 0.019 a
4	105 ± 14.3	93 ± 8.8	0.10 ± 0.015 a	0.46 ± 0.064 a	0.21 ± 0.009 a

ron los valores de tolerancia más altos en ambas estructuras, sobre el 100% (Tabla 3).

La Tabla 3 muestra que la biomasa radical sólo disminuyó significativamente con la dosis más alta de iones cobre, dosis 4 (Tabla 4), no siendo afectada la biomasa del vástago por este factor (Tabla 5). La dosis 3 del factor sulfato aumentó significativamente la biomasa de la raíz y vástago de las plántulas (Tablas 4 y 5). La presencia de ambos iones en forma simultánea no afectó significativamente la biomasa de la raíz ni del vástago de las plántulas (Tablas 4 y 5).

La proporción raíz/vástago no fue afectada significativamente por los factores cobre, sulfato y ambos iones (Tablas 2 y 6).

DISCUSION

Tanto el cobre como el azufre constituyen elementos esenciales para las plantas, pero concentraciones elevadas de éstos se vuelven tóxicas para ellas (Marschner 1986, Baker 1987, Baker & Walker 1989, Fernández & Henríques 1991, Davies 1992, Larcher 1995). En suelos normales, no contaminados, el contenido total de cobre es usualmente bajo, de 2 a 100 ppm y el de sulfato es de 50 ppm (Marschner 1986, Larcher 1995), habiéndose detectado contenidos de hasta 2.000 ppm de cobre (Freedman & Hutchinson 1980, Humphreys & Nicholls 1984, Borgegard 1989, Gutiérrez & Hoffmann 1991) y de

TABLA 4

Tabla ANDEVA para la variable respuesta biomasa radical para los tratamientos en estudio
ANOVA table for response variable root biomass for the treatment variables under study

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F	P
Cobre	3	0,024	0,008	4,01	0,0103
Sulfato	3	0,048	0,016	8,03	0,0001
Ambos Iones	3	0,008	0,003	1,28	0,2854
Error	80	0,159	0,002		

TABLA 5

Tabla ANDEVA para la variable respuesta biomasa del vástago para los tratamientos en estudio
ANOVA table for response variable shoot biomass for the treatment variables under study

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F	P
Cobre	3	0,220	0,073	2,14	0,1020
Sulfato	3	0,328	0,109	3,19	0,0280
Ambos Iones	3	0,092	0,030	0,90	0,4454
Error	80	2,740	0,034		

TABLA 6

Tabla ANDEVA para la variable respuesta proporción raíz/vástago para los tratamientos en estudio
ANOVA table for response variable root/shoot proportion for the treatment variables under study

Fuente de Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F	P
Cobre	3	0,009	0,003	0,70	0,5536
Sulfato	3	0,032	0,011	2,61	0,0574
Ambos Iones	3	0,030	0,010	2,46	0,0687
Error	80	0,329	0,004		

hasta 3.300 ppm de sulfatos (Gutiérrez & Hoffmann 1991) en relaves de minas de cobre. Todas las plantas responden a los aumentos en las concentraciones de estos elementos en su ambiente inmediato. Sin embargo, la naturaleza, magnitud y dirección de estas respuestas dependerán de la sensibilidad del individuo, la intensidad de la exposición, el elemento involucrado y la forma en la cual está presente (Baker & Walker 1989).

En general, las plantas son más sensibles a la toxicidad por cobre que por sulfato, mostrando una sensibilidad diferencial al incremento en las concentraciones de distintos elementos en el sustrato, reflejada a través de alteraciones en la germinación y supervivencia de las plántulas y en el crecimiento, morfología y coloración de los vástagos y de

las raíces (Fernández & Henríques 1991). De acuerdo con Sandmann & Boger (1980) y Lindon & Henríques (1991), el estrés por toxicidad de cobre provoca una disminución de la clorofila, por una disminución en su biosíntesis lo que se traduce en una coloración amarilla, distribuida uniformemente a nivel de la hoja (Woolhouse 1983, Fernández & Henríques 1991). Experimentos con plántulas de diversas especies vegetales, en los que se ha adicionado concentraciones crecientes de iones cobre, han resultado en clorosis cada vez más marcada en las hojas de las especies sensibles (Heale & Ormrod 1983, Ouzounidou 1994). Sin embargo, mis resultados no muestran diferencias significativas en el contenido total de clorofila en las hojas de *S. candoliana* con incrementos

en la concentración de cobre, lo que sugiere que esta especie sería capaz de tolerar niveles elevados de este metal en el sustrato, sin ver alterados los pigmentos del aparato fotosintetizador. Sin embargo, este es un síntoma de carácter secundario, que ocurre en una etapa tardía de la alteración de la planta, cuando las barreras primarias de exclusión o de compartimentalización del cobre en otros órganos han sido destruidas (Marschner 1986).

Los tratamientos con dosis experimentales crecientes de sulfatos, desde 515 ppm a 3.315 ppm, aumentaron la productividad de las plántulas de *S. candolinana*, tanto del vástago como de la raíz, indicando que los niveles elevados de sulfato tendrían un efecto fertilizante al estimular el crecimiento vegetativo. Las dosis de sulfato aumentaron o no afectaron la productividad de las plántulas, por lo que las concentraciones experimentales utilizadas en este trabajo no pueden ser consideradas como tóxicas. Un ion es considerado tóxico sólo cuando es capaz de inhibir el crecimiento vegetativo (Bannister 1976).

Concentraciones crecientes de cobre afectan rápidamente la productividad de las plántulas, disminuyendo el peso seco y la altura de éstas, siendo esta respuesta mucho más marcada en las especies sensibles que en las tolerantes (Baker et al. 1983, Chambers & Sidle 1991, Fernández & Henríques 1991). Por ejemplo, plántulas de maíz, tomate, lechuga, rábano y repollo tratadas con concentraciones de cobre menores de 5 ppm ya muestran una inhibición severa del crecimiento radical (Dhillon et al. 1983, Heale & Ormrod 1983) y plántulas de algunas especies leñosas ven disminuido su peso seco al incrementar las concentraciones de este elemento (Heale & Ormrod 1983), mientras que *Haumaniastrum katangese* y *Silene cobalticola*, las "flores de cobre" de Zaire, son capaces de crecer normalmente cuando la concentración de cobre en los tejidos alcanza a 1.000 ppm (Malaisse & Brooks 1982, Baker et al. 1983). En el caso de las plántulas de *S. candolinana*, el crecimiento radical sólo se vio reducido en forma importante con dosis experimentales de 200 ppm de cobre (60% en comparación con la dosis 1 que contenía sólo 0,000025 ppm de cobre), no siendo afectada la productividad del vástago, lo que indicaría

que esta especie sería capaz de tolerar niveles bastante elevados de cobre en el sustrato. La respuesta diferencial detectada en el crecimiento de las estructuras vegetativas de *S. candolinana*, siendo siempre las raíces inhibidas en forma más marcada que el vástago, ha sido descrita ampliamente en la literatura (ej.: Heale & Ormrod 1983, Woolhouse 1983, Baker 1987, Borgegard & Rydin 1989). Este fenómeno se debería a que las raíces son las estructuras vegetales que están en contacto directo con el exceso de cobre en el sustrato, siendo este ion incorporado y retenido en las raíces, con una translocación muy restringida hacia las estructuras vegetales aéreas (Bajer et al. 1994).

Cuando los iones cobre y sulfato se encuentran simultáneamente en concentraciones crecientes en las soluciones experimentales, el efecto inhibitorio de los iones cobre sobre la productividad de las raíces de las plántulas de *S. candolinana* sería compensado por el efecto positivo de los iones sulfato sobre este parámetro, de forma tal que la productividad de estas estructuras vegetativas no resulta afectada significativamente. Esta compensación permitiría una mayor tolerancia de las plántulas de esta especie en aquellos ambientes con concentraciones elevadas de ambos sustratos en el suelo, como se ha descrito en algunos tranques de relaves abandonados de minas de cobre (Gutiérrez & Hoffmann 1991).

Las semillas de algunas especies, tales como el tomate, lechuga, rábano y repollo, expuestas a concentraciones elevadas de algunos elementos muestran germinaciones adecuadas dentro de un período de tiempo aceptable (Whitby & Hutchinson 1974, Jordan 1975), mientras que las de otras especies, tales como *Pinus banksiana*, *Acer ginnala*, *Betula papyrifera*, *Picea abies* y especies del género *Silene*, entre otras, presentan retrasos o inhibición de la germinación, lo que depende del grado de sensibilidad de la especie (Fessenden et al. 1973, Nielson & Poterson 1973, Baker et al. 1983, Heale & Ormrod 1983). Esta misma variación de respuestas en la frecuencia de germinación la observé en las dos especies leñosas analizadas, siendo la germinación de *T. trinervis* reducida 5 veces más que la de *S. candolinana*, con el aumento en la concentración de iones

cobre, aunque la potencialidad de germinación de ambas especies es similar, según lo indicado por los porcentajes de viabilidad de las semillas.

El retraso en la germinación no necesariamente es un indicio de carencia de tolerancia a algún elemento, pero la mortalidad de las plántulas tendría mayor importancia cuando se considera el éxito en el establecimiento de las plántulas en ambientes con concentraciones elevadas de ciertos elementos. Aunque se ha detectado diferencias en la tolerancia individual a partir de ensayos de germinación, se ha encontrado que el porcentaje de sobrevivencia es una medida más útil del rendimiento, dado que muchas plántulas que germinan exitosamente no son capaces de sobrevivir (Baker 1989, Baker & Walker 1989). Sin embargo, este no fue el caso de *S. candoliana*, ya que tanto el porcentaje de germinación y el de sobrevivencia de las plántulas no disminuyó significativamente. En el caso de *T. trinervis*, dado que la mortalidad de las plántulas generadas fue dos veces más alta que en *S. candoliana* al aumentar la dosis de iones cobre y cinco veces mayor al aumentar la dosis de iones sulfato, sobreviviendo un porcentaje muy bajo de las plántulas, no pude determinar si las pocas plántulas generadas eran capaces de tolerar niveles elevados de estos elementos durante un período de tiempo prolongado.

La extrapolación de los experimentos de laboratorio a la naturaleza involucra muchas incertezas. Sin embargo, resulta interesante destacar las diferencias interespecíficas e intraespecífica frente a tratamientos experimentales, como un primer paso para comprender las respuestas de las plantas a la contaminación en ambientes naturales. En este trabajo encontré no sólo diferencias en las respuestas interespecíficas a incrementos en las concentraciones de iones cobre y sulfato, sino que también fue evidente la gran variabilidad intraespecífica de respuesta mostrada por ambas especies leñosas (datos no mostrados). Otros autores también han detectado una gran variabilidad dentro de cada tratamiento (Jowett 1964, Gregory & Bradshaw 1965, Hill 1983). Aunque la gran variabilidad detectada en las respuestas a un mismo tratamiento entre las semillas y las plántulas individuales indica que se requiere una

replicación adecuada en los diseños experimentales. Hill (1983) encontró que, a pesar de utilizar una replicabilidad adecuada, la alta variabilidad aún permanecía, probablemente por las diferencias en el estatus de crecimiento fisiológico de las plantas individuales. Este alto grado de variabilidad intraespecífica detectado en las especies vegetales sería, sin embargo, la base sobre la cual niveles elevados de metales pesados y de otras sustancias en el ambiente, podrían actuar como una fuerza poderosa de selección en las poblaciones naturales, llevando a una selección direccional de los genotipos tolerantes (Bradshaw 1983, Baker 1987, Baker & Walker 1989).

Es claro, entonces, que existen excepciones a los efectos generales de reducción en la germinación, crecimiento y desarrollo de las semillas y plántulas con niveles tóxicos de cobre en el sustrato, tanto a nivel específico como individual, siendo estas especies e individuos de mucha importancia para la recuperación de áreas altamente contaminadas, tales como los embalses de relaves.

AGRADECIMIENTOS

Parte de este trabajo fue realizado durante el curso de postgrado "Seminario de Investigación en Ecología", dirigido por el Dr. Miguel Jordán, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la P. Universidad Católica de Chile, a quien agradezco su valiosa ayuda. Agradezco a la Fundación Andes por financiar mis estudios en el Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, mención Ecología, de la P. Universidad Católica de Chile, y a la Fundación A. Mellon. Parte de este trabajo fue financiado por el Proyecto Fondecyt 2950085, administrado por R. Ginocchio.

LITERATURA CITADA

- ANTONOVICS J (1975) Metal tolerance in plants: perfecting an evolutionary paradigm. En: Hutchinson TC (ed) Proceedings of International Conference on heavy metals in the environment: 169-185. Institute of Environmental Studies, University of Toronto, Toronto.
- ARMESTO JJ & ST PICKETT (1985) A mechanistic approach to the study of succession in the Chilean matorral. Revista Chilena de Historia Natural 58: 9-17

- ASHBY WC (1987) Forests. En: Jordan WR, ME Gilpin & JD Aber (eds) Restoration ecology. A synthetic approach to ecological research: 89-108. Cambridge University Press, New York.
- BAIG MN (1992) Natural revegetation of coal mine spoils in the Rocky Mountains of Alberta and its significance for species selection in land restoration. Mountain Research and Development 12: 285-300.
- BAJER AJM, RD REEVES & ASM HAJAR (1994) Heavy metal accumulation and tolerance in British populations of the metallophyte *Thlaspi caerulescens* J & C Presl (Brassicaceae). New Phytologist 127: 61-68.
- BAKER AJM (1984) Environmentally-induced cadmium tolerance in the grass *Holcus lanatus* L. Chemosphere 13: 585-598.
- BAKER AJM (1987) Metal tolerance. New Phytologist 106: 93-111.
- BAKER AJM & RR BROOKS (1989) Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. Biorecovery 1: 81-126.
- BAKER AJM & PL WALKER (1989) Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity. Chemical Speciation and Bioavailability 1: 7-17.
- BAKER AJM, RR BROOKS, AJ PEASE & F MALAISSE (1983) Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Silene* L. (caryophyllaceae) from Zaire. Plant and Soil 73: 377-385.
- BANNISTER P (1976) Introduction to physiological plant ecology. John Wiley and Sons, New York. 273 pp.
- BAUDO R (1987) Heavy metal pollution and ecosystem recovery. En: Ravera O (ed) Ecological assessment of environmental degradation, pollution and recovery: 325-352. Elsevier Scientific Publishers BV, Amsterdam, The Netherlands.
- BELL TM & IA UNGAR (1981) Factors affecting the establishment of natural vegetation on a coal strip mine spoil bank in southwestern Ohio. American Midland Naturalist 105: 19-31.
- BENHKE R (1976) Problemas concernientes a la deposición de desechos producidos por faenas de la gran minería del cobre en Chile. Tesis de Ingeniero Civil en Minas. Departamento de Minas, Universidad de Chile, Santiago. 145 pp.
- BRADSHAW AD (1975) The evolution of metal tolerance and its significance for vegetation establishment on metal contaminated sites. En: Hutchinson TC (ed) Proceedings of International Conference on heavy metals in the environment: 599-622. Institute of Environmental Studies, University of Toronto, Toronto.
- BRADSHAW AD (1983) The reconstruction of ecosystems. Journal of Applied Ecology 20: 1-17.
- BRADSHAW AD (1984) The importance of evolutionary ideas in ecology and vice versa. En: Shorrocks B (ed) Evolutionary ecology: 1-25. Blackwell, Oxford.
- BRADSHAW AD & MJ CHADWICK (1980) The restoration of land. University of California Press, Berkeley, California, 317 pp.
- CABELLO A (1990) Propagación de especies pertenecientes a los bosques esclerófilos y espinosos de la zona central de Chile. En: Opciones silviculturales de los bosques esclerófilos y espinosos de la zona central de Chile. Apuntes docentes N° 3, Departamento de Silvicultura, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad de Chile, Santiago. pp 56-74.
- CHAMBERS JC & RC SIDLE (1991) Fate of heavy metals in an abandoned lead-zinc tailings pond: I. Vegetation. Journal of Environmental Quality 20: 745-751.
- DAUBENMIRE RF (1974) Plants and environment. A textbook of plant autoecology. John Wiley and Sons, NY. 422 pp.
- DAVIES BE (1987) Mining effects on ecosystems and their recovery. En: Ravera O (ed) Ecological assessment of environmental degradation, pollution and recovery: 313-323. Elsevier Scientific Publishers BV, Amsterdam, The Netherlands.
- DAVIES BE (1992) Trace metals in the environment: retrospects and prospects. En: Adriano DC (ed) Biogeochemistry of trace metals: 1-17. Lewis Publishers, London.
- DEAN KC, R HAVENS, KT HARPER & JB ROSENBAUM (1973) Vegetative stabilization of mill mineral wastes. En: Hutnik RJ & G Davies (eds) Ecology and reclamation of devastated land. Vol 2. Gordon and Breach, NY. pp 119-136
- DHILLON KS, BA YAGODEEN & AC PLESKOV (1983) Micronutrients and nitrogen metabolism. I. Effects of different levels of micronutrients on nitrogen constituents in maize plants. Plant and Soil 73: 355-363.
- DONOSO C (1978) Dendrología de árboles y arbustos chilenos. Manual N° 2. Universidad de Chile, Santiago. 142 pp.
- ELLIS D (1989) Environments at risk. Case histories of impact assessment. Springer-Verlag, New York. 325 pp.
- ESPINOZA G, P GROSS & ER HAJEK (1991a) Problemas ambientales de la Región de Atacama (III Región). CONAMA. Secretaría Técnica y Administrativa, Santiago.
- ESPINOZA G, P GROSS & ER HAJEK (1991b) Problemas ambientales de la Región de Coquimbo (IV Región). CONAMA. Secretaría Técnica y Administrativa, Santiago.
- ESPINOZA G, P GROSS & ER HAJEK (1991c) Problemas ambientales de la Región de Valparaíso (V Región). CONAMA. Secretaría Técnica y Administrativa, Santiago.
- ESPINOZA G, P GROSS & ER HAJEK (1991d) Problemas ambientales de la Región del Libertador General Bernardo O'Higgins (VI Región). CONAMA. Secretaría Técnica y Administrativa, Santiago.
- ESPINOZA G, P GROSS & ER HAJEK (1991e) Problemas ambientales de la Región del Maule (VII Región). CONAMA. Secretaría Técnica y Administrativa, Santiago.
- ESPINOZA G, P GROSS & ER HAJEK (1991f) Problemas ambientales de la Región Metropolitana de Santiago. CONAMA. Secretaría Técnica y Administrativa, Santiago.
- EVERITT BS (1977) The analysis of contingency tables. Chapman and Hall, London. 128 pp.
- FERNANDEZ JC & FS HENRIQUES (1991) Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. The Botanical Review 57: 246-273.
- FESSENDEN et al (1973) citado en HEALE EL & DP ORMROD (1983).
- FIEDLER PL (1985) Heavy metal accumulation and the nature of edaphic endemism in the genus *Calochortus* (Liliaceae). American Journal of Botany 72: 1712-1718.
- FREEDMAN & HUTCHINSON (1980) citado en FERNANDEZ JC & FS HENRIQUES (1991)
- GIBSON DJ (1982) The natural revegetation of lead/zinc mine spoils in northern Oklahoma. Southwestern Naturalist 27: 425-436.
- GUTIERREZ JR & A HOFFMANN (1991) Reclamation of copper tailing in Chile. Revista Chilena de Historia Natural 64: 77-83.

- GREGORY RPG & AD BRADSHAW (1965) Heavy metal tolerance in populations of *Agrostis tenuis* Sibth. and other grasses. *New Phytologist* 64: 131-143.
- HARBONE JB (1973) *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis.* Chapman and Hall, London.
- HEALE EL & DP ORMROD (1983) Effects of nickel and copper on seed germination and growth and development of seedlings of *Acer ginnala*, *Betula papyrifera*, *Picea abies* and *Pinus banksiana*. *Reclamation and Revegetation Research* 2: 41-54.
- HILL JRC (1983) Toxic tolerance in populations of plants selected to stabilize mine wastes in Zimbabwe. *Reclamation and Revegetation Research* 2: 217-225.
- HOAGLAND DR (1948) *Lectures on the inorganic nutrition of plants.* Chronica Botanica, Waltham, Massachusetts. pp 48-71.
- HOFFMANN AE (1989) *Flora silvestre de Chile. Zona central.* Ediciones Fundación Claudio Gay. 258 pp.
- HUMPHREYS MO & MK NICHOLLS (1984) Relationships between tolerance to heavy metals in *Agrostis capillaris* L. (*A. tenuis* Sibth.). *New Phytologist* 98: 177-190.
- JOHNSON FL, DJ GIBSON & PG RISSER (1982) Revegetation of unreclaimed coal strip-mines in Oklahoma. *Journal of Applied Ecology* 19: 453-463.
- JONESCU ME (1979) *Natural revegetation of strip-mined land in the lignite coalfields of southeastern Saskatchewan, vol II.* Pergamon Press, New York. 552 pp.
- JORDAN MJ (1975) Effects of Zn smelter emissions and fire on chesnut-oak woodland. *Ecology* 56: 78-91.
- JOWETT D (1964) Population studies on lead-tolerant *Agrostis tenuis*. *Evolution* 18: 816-817.
- LARCHER W (1995) *Physiological plant ecology.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 506 pp.
- LEAVITT SW, RD DUESER & HG GOODELL (1979) Plant regulation of essential and non-essential heavy metals. *Journal of Applied Ecology* 16: 203-212.
- LINDON FC & FS HENROQUES (1991) Limiting step on photosynthesis of rice plants treated with varying copper levels. *Journal of Plant Physiology* 138: 115-118.
- MALAISSÉ F & RR BROOKS (1982) Colonisation of modified metalliferous environments in Zaire by copper flower *Haumaniastrum katangense*. *Plant and Soil* 64: 289-293.
- MARSCHNER H (1986) *Mineral nutrition of higher plants.* Academic Press, London. 674 pp.
- McNAUGHTON SJ, TC FOLSOM, T LEE, F PARK, C PRICE, D ROEDER, J SCHMITZ & C STOCKWELL (1974) Heavy metal tolerance in *Thypha latifolia* without the evolution of tolerant races. *Ecology* 55: 1163-1165.
- MARSHAL IB (1982) Mining, land use, and environment. I: a Canadian review. *Land Use in Canada Series* N° 22.
- MONTENEGRO G, G AVILA, ME ALJARO, R OSORIO & M GOMEZ (1989) Chile. En ORSHAN G (ed) *Plant pheno-morphological studies in mediterranean type ecosystems.* Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. pp 347-389.
- NIELSON RF & HB PETERSON (1973) Establishing vegetation on mine tailings waste. En: Hutnik RJ & G Davies (eds) *Ecology and reclamation of devastated land.* Vol 2. Gordon and Breach, New York. pp 103-115.
- OUZOUNIDOU G (1994) Copper-induced changes on growth, metal content and photosynthetic functions of *Alyssum montanum* L. plants. *Environmental and Experimental Botany* 34: 165-172.
- REITH CC (1986) Introduction and overview of methods in reclamation science. En: Reith CC & LD Potter (eds) *Principles and methods in reclamation science, with case studies from the arid Southwest.* University of New Mexico Press, Albuquerque. pp 1-16.
- RUNDEL PW & J NELL (1978) Nitrogen fixation in root nodules of *Trevoa trinervis* (Rhamnaceae). *Flora* 167: 127-132.
- SANDMAN G & P BOGER (1980) Copper-mediated lipid peroxidation processes in photosynthetic membranes. *Plant Physiology* 66: 797-800.
- SAS INSTITUTE (1991) *SAS User's guide.* SAS Institute, Inc. North Carolina, USA.
- SERNAGEOMIN (1989) *Levantamiento catastral de los tranques de relave en Chile. Etapa A, Regiones V y XII Santiago,* 6 vol. Ingeniería y Geotécnica, Santiago.
- SERNAGEOMIN (1990a) *Levantamiento catastral de los tranques de relave en Chile. Etapa B, Regiones IV, VI y VII/ Santiago,* 12 vol. Ingeniería y Geotécnica, Santiago.
- SERNAGEOMIN (1990b) *Levantamiento catastral de los tranques de relave en Chile. Etapa C, Regiones II y III/ Santiago,* 7 vol. Ingeniería y Geotécnica, Santiago.
- SIEGEL S & NJ CASTELLAN (1988) *Nonparametric statistics for the behavioral sciences.* McGraw-Hill Book Company, New York, NY.
- STATSOFT (1993) *Statistica user's guide.* StatSoft, Inc., USA.
- STEEL GD & JH TORRIE (1985) *Bioestadística. Principios y procedimientos.* McGraw-Hill, Bogotá.
- TOLEDO X & E ZAPATER (1989) *Geografía general y regional de Chile.* Editorial Universitaria, Santiago.
- WHITBY LM & TC HUTCHINSON (1974) Heavy metal pollution in the Sudbury mining and smelting region of Canada. 2. Soil toxicity tests. *Environmental Conservation* 1: 191-200.
- WOOLHOUSE HW (1983) Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals. En LANGE OL et al (eds) *Encyclopedia of plant physiology, New Series,* vol 12C. Springer-Verlag, Berlin, NY. pp 246-300.