

Acumulación de cobre en una comunidad vegetal afectada por contaminación minera en el valle de Puchuncaví, Chile central

Copper accumulation in a plant community affected by mining contamination in Puchuncaví valley, central Chile

ISABEL GONZÁLEZ¹, VICTORIA MUENA¹, MAURICIO CISTERNAS² & ALEXANDER NEAMAN^{3,4,*}

¹ Programa de Magíster en Producción Agroambiental, Facultad de Agronomía,
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile

² Área de Medio Ambiente, Laboratorio de Fitogenética, Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica
de Valparaíso, Chile

³ Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile

⁴ Centro Regional de Estudios en Alimentos Saludables (CREAS), Región de Valparaíso, Chile

*e-mail para correspondencia: alexander.neaman@ucv.cl

RESUMEN

Las especies hiperacumuladoras son capaces de acumular más de 1.000 mg kg⁻¹ de metal en su biomasa aérea y son útiles en procesos de fitoextracción de metales en suelos contaminados por actividades mineras. Con el fin de identificar especies hiperacumuladoras representativas de las condiciones chilenas, se realizó una prospección dentro de la diversidad vegetal en el área afectada por las emisiones de la Fundición Ventanas (90-900 mg kg⁻¹ de Cu total en suelos), así como en un área cercana a una pila de escorias de fundición (500-3.000 mg kg⁻¹ de Cu total en suelos). Se determinaron las concentraciones de Cu en la biomasa aérea de las plantas. Los resultados indican que dentro de la diversidad del sitio existen al menos veintidós especies pseudometalofitas, es decir, ecotipos de especies comunes que son capaces de tolerar concentraciones de cobre en el suelo que para una planta normal serían tóxicas. Las especies fueron clasificadas según su concentración de cobre y mostraron en su mayoría media (200-600 mg kg⁻¹) o baja (< 200 mg kg⁻¹) acumulación de cobre. La especie con la concentración más alta de cobre fue *Oenothera affinis* (614 mg kg⁻¹). Sin embargo, no se identificaron hiperacumuladoras. *Oenothera affinis* podría considerarse como una buena candidata para iniciativas de remediación en Chile, ya que es una hierba nativa perenne, resistente a la sequía, fácil de propagar y que produce una gran biomasa. Sin embargo, es necesario comprobar que no hubo alguna sobreestimación de las concentraciones de Cu en las plantas, debido a la adherencia de partículas contaminantes en los tricomas. Además, se realizaron dos nuevos muestreos más tarde en la temporada, para *Argemone subfusiformis* y *Oenothera affinis*. Existe una disminución en la concentración de Cu en la biomasa aérea al avanzar la temporada causada por el desarrollo de estructuras de baja acumulación de Cu (flores, frutos y hojas de verano) en el estado reproductivo y a la pérdida de la biomasa de alta concentración de Cu al llegar a la senescencia. Además, este último muestreo sugiere que pudo existir un grado de retranslocación de cobre desde la biomasa aérea hacia las estructuras subterráneas durante la senescencia, en *O. affinis*.

Palabras clave: *Oenothera affinis*, metalofitas, cobre, fitoextracción.

ABSTRACT

Hyperaccumulator plants species are capable of accumulating more than 1,000 mg Cu kg⁻¹ in their shoots and are useful for metal phytoextraction in soils contaminated by mining activities. To identify the hyperaccumulator plants representative of the Chilean conditions, we carried out a survey of plant diversity in the area affected by the emissions of the Ventanas smelter (90-900 mg kg⁻¹ of total Cu in soils) and in a nearby area close to a smelter slag pile (500-3,000 mg kg⁻¹ of total Cu in soils). Copper concentrations in the shoots of the studied plants were determined. Results indicate that there were at least twenty-two pseudometallophyte species, i.e., ecotypes of common species capable to tolerate concentrations of Cu in the soil that would be toxic for a normal plant. The species were classified by their copper accumulation and nearly all exhibited medium (200-600 mg kg⁻¹) or low (< 200 mg kg⁻¹) accumulation of copper. The species with the highest accumulation of copper was *Oenothera affinis* (614 mg kg⁻¹). However, no hyperaccumulator species were found. *Oenothera affinis* could be considered as a good candidate for

remediation initiatives in Chile, because it is a native perennial herb, it is drought resistant, it is easy to propagate, and that it produces a large biomass. However, it is still required to verify that there was no overestimation of Cu concentrations in the plants due to attachment of particles onto the trichomes. In addition, two new samplings were carried out later in the growing season, for *Argemone subfusiformis* and *Oenothera affinis*. There was a decrease in the concentration of Cu in the shoots with the advance of the season caused by the development of structures with low Cu accumulation (flowers, fruits, and summer leaves) during the reproductive stage and the loss of Cu-rich biomass during the senescence. Moreover, this last sampling suggests that there was possibly a certain re-translocation of Cu into the subterranean structures during the senescence for *O. affinis*.

Key words: *Oenothera affinis*, metallophytes, copper, phytoextraction.

INTRODUCCIÓN

En sitios cercanos a minas y fundiciones de metales es común encontrar extensas áreas contaminadas con diversos elementos ecotóxicos, tales como: cobre, cadmio, plomo, arsénico y otros. La mayoría de las plantas no crecen en estos sitios, ya que las altas concentraciones de estos elementos son tóxicas para sus organismos. Sin embargo, existe un grupo de plantas denominadas metalofitas, que son capaces de desarrollarse en estas condiciones. Este grupo de plantas incluye a las metalofitas estrictas, es decir, aquellas que solo crecen en sitios contaminados (endémicas) y a las pseudometalofitas, es decir, poblaciones tolerantes de especies comunes (Pollard et al. 2002). Dentro del grupo de las metalofitas, existe un grupo aún más reducido denominado hiperacumuladoras, definidas como especies metalofitas capaces de concentrar metales. En el caso de Cu, estas plantas pueden acumular más de 1.000 mg kg⁻¹ del contaminante en su biomasa aérea en base a su materia seca (Baker & Brooks 1989, McGrath et al. 1993).

Las especies hiperacumuladoras han adquirido relevancia en las últimas décadas, debido a su potencial uso en técnicas de fitoextracción de metales en suelos contaminados. Esta técnica consiste en cultivar especies que acumulan un determinado contaminante por una o varias temporadas. Posteriormente, la biomasa aérea es cosechada e incinerada y las cenizas restantes son tratadas como desechos peligrosos (Ginocchio 2004).

La eficiencia de un proceso de fitoextracción depende principalmente de la selección de una especie adecuada. Con este fin, se debe considerar que la capacidad de fitoextracción de una planta depende tanto de su conformación genética como de las condiciones ambientales a las que está

sometida (Pollard et al. 2002). La especie ideal debería estar adaptada a las condiciones edafoclimáticas del sitio a remediar, ya que esto le permite un correcto desarrollo vegetativo que facilita los procesos de remoción y translocación de los contaminantes (Vara & Oliveira 2003, Ginocchio 2004).

La realización de una prospección de especies acumuladoras, dentro de la diversidad vegetal existente en los mismos sitios que se desea remediar, aseguraría trabajar con especies totalmente adaptadas a las condiciones climáticas y edáficas. Dado que en estas áreas solamente se desarrollan especies metalofitas, es posible que existan algunas especies que además de resistentes sean acumuladoras. Investigaciones de este tipo han sido reportadas por ejemplo en suelos serpentinos en Turquía donde se encontraron, dentro de 45 especies, 13 hiperacumuladoras de Ni del género *Centaurea* (Reeves & Adigüzel 2004). En Katanga (Congo), en una afloración de cobre/cobalto, se identificó de entre 76 especies metalofitas, a *Aeollanthus subacaulis* var. *ericoides*, hiperacumuladora de cobalto (Malaisse et al. 1999). También, en Nueva Caledonia, entre 32 especies que crecían en una afloración de níquel, se identificaron 12 especies hiperacumuladoras de este metal de la familia Flacourtiaceae (Jaffré et al. 1979).

En Chile, a pesar de la alta diversidad de especies y la gran cantidad de explotaciones mineras existentes, se han identificado solamente seis especies metalofitas para Cu (*Mimulus luteus* var. *variegatus*, *Cenchrus echinatus*, *Erygeron berterianum*, *Mullinum spinosum*, *Nolana divaricata*, y *Dactylium* sp.), pero aún no se han reconocido especies hiperacumuladoras (Ginocchio & Baker 2004).

La localidad de Los Maitenes en el valle de Puchuncaví (Chile central) es un área altamente contaminada por Cu, debido a que recibió por

más de 35 años las descargas de emisiones gaseosas emitidas por la Fundición Ventanas (Bruno 1992). Actualmente, en Chile no existe una legislación sobre las concentraciones máximas permitidas de elementos tóxicos en los suelos. Por lo tanto, se deben usar legislaciones internacionales como referencia. Por ejemplo, la Swedish Environmental Protection Agency (disponible en www.internat.naturvardsverket.se) postula que los suelos con una concentración total de cobre superior a 100 mg kg^{-1} deben ser considerados como contaminados. Según los datos obtenidos por De Gregori et al. (2003), las concentraciones de Cu total en Los Maitenes (104 a 530 mg kg^{-1}) sobrepasan hasta cinco veces estos estándares. Sin embargo, se debe tener en cuenta que dichos estándares no consideran las altas concentraciones de fondo que existen en Chile para Cu (R. Aguilar, resultados no publicados).

Ginocchio (2000) reportó efectos negativos asociados a las emisiones de material particulado y SO_2 de la Fundición Ventanas, en las comunidades de matorrales silvestres en el valle de Puchuncaví. Actualmente, la vegetación del valle se compone de algunas poblaciones de las especies que existían originalmente, las cuales han desarrollado mecanismos de tolerancia a las actuales condiciones edáficas (Ginocchio 1997).

En base a los antecedentes, se postula que es posible encontrar especies metalofitas dentro de la diversidad vegetal de la localidad de Los Maitenes y, entre ellas, especies hiperacumuladoras de Cu. El objetivo de esta investigación fue identificar especies vegetales capaces de acumular cobre en cantidades sobre lo normal. Para este propósito, se escogieron dos sitios en las cercanías de la Fundición Ventanas, donde se realizó una prospección de plantas en su hábitat natural.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo

La prospección de especies se llevó a cabo en un área ubicada aproximadamente a 3 km al sur-este de la Fundición Ventanas (UTM 6372975 N, 267350 E), en la localidad de Los

Maitenes, comuna de Puchuncaví, Región de Valparaíso, Chile (Fig. 1). Se seleccionaron dos áreas representativas, ambas con concentraciones de cobre sobre lo normal según la Swedish EPA (disponible en www.internat.naturvardsverket.se). La primera corresponde a un área de matorral típico de la zona (UTM 6371295 N, 268650 E, Fig. 1) ubicada al norte y al sur del camino a Los Maitenes, con predominancia de una cobertura herbácea y matorrales (Ginocchio et al. 2004). Esta área fue considerada como representativa de la zona que ha recibido la contaminación atmosférica proveniente de la fundición. La segunda área con concentraciones mayores de cobre que el área anterior, se encuentra en las cercanías de una pila de escorias de fundición (propiedad de la minera Tocopilla, UTM 6370072 N, 269355 E, Fig. 1). Esta área es considerada como representativa de los suelos contaminados por depósitos mineros. En esta área la cobertura vegetal disminuye gradualmente hasta desaparecer totalmente al pie de la pila de escorias de fundición.

Prospección de especies

La prospección e identificación de especies fue realizada en el mes de agosto de 2005. En cada una de las áreas de muestreo, se recolectó biomasa aérea de las especies herbáceas y arbustivas. Para la identificación de las especies vegetales, se utilizaron los trabajos de Johnston (1947), Navas (1979), Marticorena & Quezada (1985), Matthei (1995), y Leuenberger & Egli (2002).

Para cada especie identificada, se muestrearon dos individuos, ubicados a no más de 3 m de distancia entre ellos. Ambos individuos fueron considerados como una misma muestra y representativos de un mismo suelo. En cada sitio se tomaron con barreno cinco muestras al azar de 1-1,5 kg de suelo, desde la superficie hasta unos 20 cm de profundidad. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio en cartuchos de papel.

Muestreo para el análisis de la variación temporal de cobre en algunas especies

Para estudiar la variación estacional de la concentración de Cu en la biomasa aérea de las especies, se consideró el muestreo de agosto

(especies en estado vegetativo) y se realizó un nuevo muestreo en diciembre de 2005 (especies en estado reproductivo) para las especies *Chenopodium ambrosioides*, *Sphaeralcea velutina*, *Verbascum virgatum*, *Oenothera*

affinis y *Argemone subfusiformis*. Cada especie se muestreó en el mismo sector que en agosto. En un tercer muestreo en marzo del 2006 (especies en senescencia), se muestreó solamente *Oenothera affinis*.

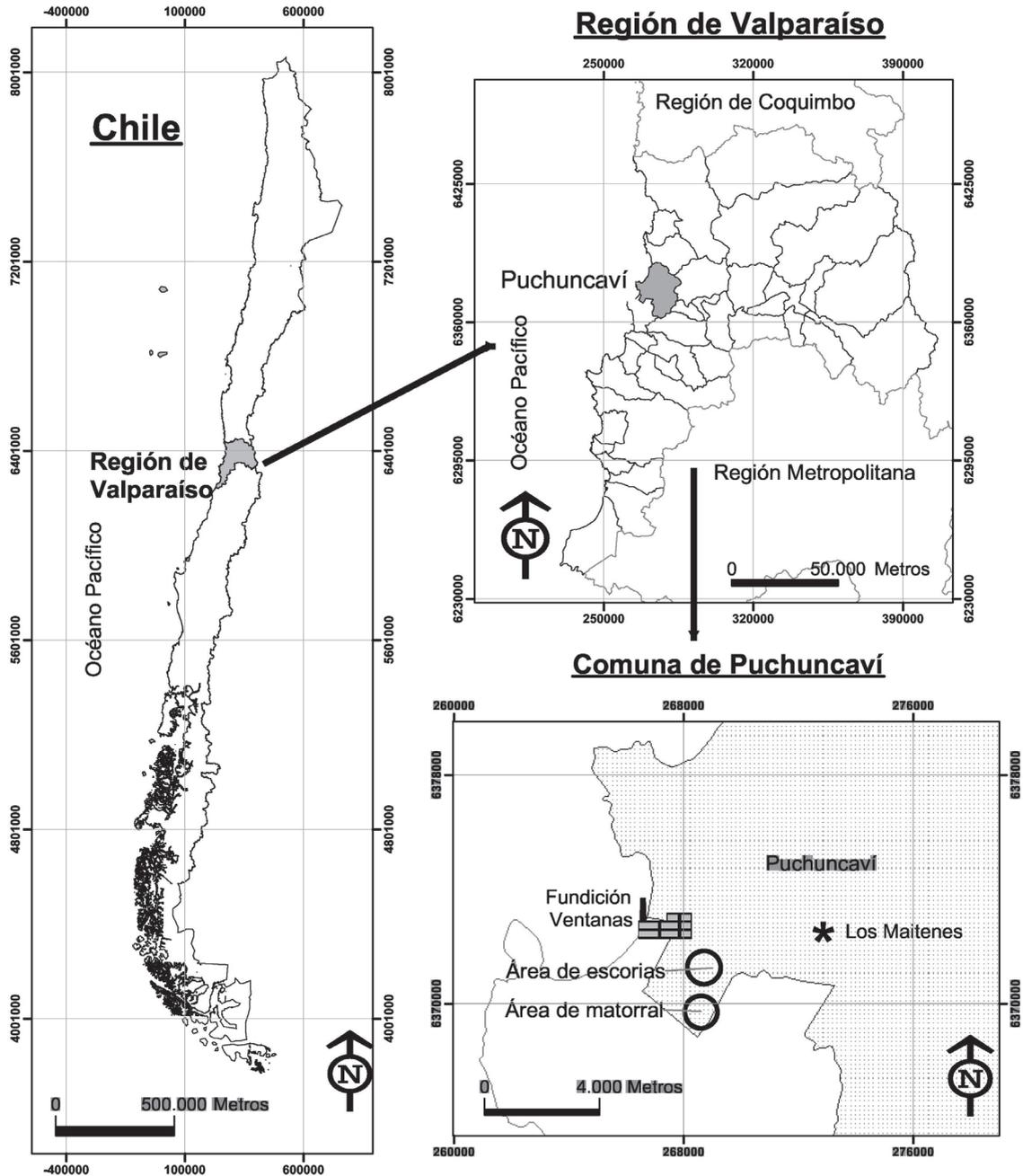


Fig.1: Ubicación geográfica del área de estudio.

Geographical location of the study area.

Análisis de suelos

Las concentraciones de Cu total en los suelos fueron determinadas mediante espectrometría de absorción atómica, luego de la digestión ácida de las muestras usando una mezcla de ácidos fluorhídrico y perclórico (Maxwell 1968). Se analizaron independientemente las cinco muestras representativas de cada sitio de muestreo, considerándose dos repeticiones para cada una de ellas. Para el aseguramiento y control de calidad de los resultados, se analizaron dos muestras de referencia: GBW 07312 (sedimento de río) y IAEA-SL-1 (sedimento lacustre) del *International Atomic Energy Agency*. Los valores de referencia y los obtenidos se presentan en la Tabla 1.

Según Kabata-Pendias (2004), las extracciones con sales neutras en concentraciones relativamente bajas son consideradas como las mejores para simular las concentraciones fitodisponibles de elementos traza en el suelo. En esta investigación, se utilizó KNO_3 0,1 M como extractante (razón suelo: solución de 1: 2,5). En adelante, esta fracción extraída se denominará como "soluble". La concentración de Cu soluble se determinó mediante espectroscopia de absorción atómica. El pH se determinó en la misma solución de KNO_3 0,1 M.

Análisis de cobre en las plantas

Las plantas muestreadas en agosto fueron lavadas dos veces con agua potable para remover partículas de suelo y posteriormente dos veces con agua destilada (Tang et al. 1999, Poschenrieder et al. 2001). El material vegetal se secó por 48 h en una estufa a 60 °C, triturándose luego en molino de acero

inoxidable. Para evitar la contaminación cruzada de las muestras, el molino se limpió con aire comprimido entre una muestra y otra.

Para realizar los análisis de cada muestra compuesta (de dos individuos de la misma especie), se obtuvieron tres submuestras (repeticiones). El material vegetal triturado fue digerido en matraces Erlenmayer con una mezcla de ácidos nítrico y perclórico concentrados, siguiendo el método de Soon (1998). Posteriormente, las concentraciones de cobre en las soluciones fueron determinadas por espectroscopia de absorción atómica.

Para comprobar la exactitud y precisión del método, se llevaron a cabo análisis de dos muestras de referencia: 1570a (espinaca) y 1573a (tomate) del National Institute of Standards and Technology. Los valores obtenidos y los de referencia se presentan en la Tabla 1.

Posteriormente, las especies se clasificaron según la concentración de Cu en sus biomásas aéreas, en rangos sugeridos por los autores: baja acumulación (< 200 mg kg⁻¹), media acumulación (200-600 mg kg⁻¹) y alta acumulación (601-1.000 mg kg⁻¹). Se consideró que una planta con una concentración mayor a 1.000 mg kg⁻¹ es hiperacumuladora (Baker & Brooks 1989). Además, concentraciones de Cu menores o iguales a 20 mg kg⁻¹ se consideraron como normales en la biomasa aérea de una planta (Adriano 1986).

Para las plantas muestreadas en diciembre y marzo (segundo y tercer muestreo), la biomasa aérea fue separada en hojas de otoño (en la parte baja del tallo), hojas de verano (en la parte alta del tallo), tallo, flores y frutos, siguiéndose el mismo procedimiento anterior para el análisis de Cu.

TABLA 1

Resultados del análisis de muestras de referencia para Cu. Se presenta el valor promedio (n = 5), la desviación estándar y el porcentaje de diferencia entre el valor obtenido versus el certificado

Results of the analysis of Cu in the reference materials. Average (n = 5), standard deviation, and the percentage of difference between the determined value versus the reference value are shown

	Espinaca 1570a (mg kg ⁻¹)	Tomate 1573a (mg kg ⁻¹)	Sedimento de río GBW 07312 (mg kg ⁻¹)	Sedimento lacustre IAEA-SL-1 (mg kg ⁻¹)
Valor certificado	12,2 ± 0,60	4,70 ± 0,14	1.230 ± 12	30,0 ± 5,0
Valor obtenido	11,6 ± 0,41	4,58 ± 0,12	1.250 ± 14	28,8 ± 0,7
Diferencia, %	4,8	2,7	1,6	4,7

Análisis estadístico de los datos

La relación entre el Cu total y soluble y el pH del suelo fue analizada por regresión múltiple ($P < 0,05$). Se utilizó el Software MINITAB 13.1 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de los suelos

Se encontraron fuertes variaciones espaciales en las concentraciones de cobre en los suelos estudiados (Tabla 2), al igual que lo reportado anteriormente por Ginocchio et al. (2004). Los promedios para Cu total y soluble para los suelos del área de escorias de fundición son mayores que para los suelos del área de matorral, dado que la pila de escoria se compone de desechos del proceso productivo, los que hacen que su composición sea alta en Cu y otros elementos. Los suelos en ambos sitios presentaron valores de pH en el rango de 3,9-5,9.

Los resultados de la regresión simple entre cobre total y soluble indican una relación significativa ($P < 0,05$; $n = 13$), pero el modelo solo satisface un 51 % de la varianza. Al agregar la variable pH al modelo, y luego de aplicar transformación logarítmica a los datos, la regresión arrojó una correlación significativa entre las tres variables ($P < 0,001$) y el modelo es capaz de satisfacer el 84 % de la varianza: $\text{Log Cu}_{\text{soluble}} = 1,63 + 0,969 \text{ Log Cu}_{\text{total}} - 0,704 \text{ pH}$.

Especies identificadas

Se identificaron en total 22 especies (Tabla 3). Sin embargo, estas especies no representan la

diversidad vegetal existente en el sector, ya que solamente se muestrearon especies con biomasa adecuada para un proceso de fitoextracción, excluyéndose así las especies herbáceas de menor tamaño (por ejemplo, gramíneas).

Siete de las especies muestreadas fueron reconocidas exclusivamente en el área de las escorias y seis exclusivamente en el área de matorral. Nueve especies se muestrearon en ambas áreas. La familia Asteraceae fue la más abundante con seis especies. La mayor parte de las especies corresponden a hierbas anuales (terófitas, ocho especies), bianuales (terófitas, dos especies) o perennes (criptófitas o hemicriptófitas, siete especies), el resto corresponden a arbustos (nanofanerófitas, cinco especies). En cuanto al origen de las especies, nueve especies son introducidas y once son nativas, entre estas últimas *Sphaeralcea velutina*, *Atriplex repanda* y *Astragalus amatus* son consideradas endémicas (Tabla 3).

En relación al estado fenológico, la mayor parte de las especies muestreadas en agosto se encontraban en estado de desarrollo vegetativo, el resto presentaban estructuras reproductivas, en su mayoría únicamente flores (Tabla 3).

Cobre en la biomasa aérea de las especies prospectadas

Todas las especies muestreadas presentaron acumulación de Cu por sobre lo normal (mayor a 20 mg kg⁻¹, Adriano 1986). La mayor concentración de Cu se encontró en *Oenothera affinis* con 614 mg kg⁻¹. El resto de las especies presentaron baja o media acumulación de Cu (Tabla 4).

TABLA 2

Características químicas de los suelos estudiados. Se presentan el rango de valores y las medianas de los parámetros analizados. Concentraciones están expresadas al peso seco

Chemical characteristics of the studied soils. Range of values and medians of analyzed parameters are given. Concentrations are expressed on a dry basis

Sitio		Cu total (mg kg ⁻¹)	Cu soluble (mg kg ⁻¹)	pH
Matorral (n = 8)	Rango	92-872	1,1 - 30	3,9 - 5,9
	Mediana	550	23	4,5
Escorias (n = 6)	Rango	533 - 2.790	1,6 - 44	4,1 - 5,1
	Mediana	1.289	26	4,8

TABLA 3

Especies identificadas en las áreas de estudio (muestreo de agosto). Se presenta el ciclo de vida (CV), forma de vida (FV), estado fenológico (EF) y origen (OR); h = hojas, fl = flores, fr = frutos, b = bulbo; HA = hierba anual, HP = hierba perenne, A = arbusto, HB = hierba bianual; HC = hemicriptófito, TR = terófito, NF = nanofanerófito; I = introducida; N = nativa; E = endémica

Species identified in the study areas (August sampling). Life cycle (CV), life form (FV), and phenological stage (EF) are given; h = leaves, fl = flowers, fr = fruits, b = bulb; HA = annual herb, HP = perennial herb, A = shrub, HB = biannual herb; HC = hemicryptophyte; TR = therophyte; NF = nanophanerophyte; I = exotic, N = native; E = endemic

Familia	Especie	CV	FV	EF	OR
Área de escorias					
Aizoaceae	<i>Galenia pubescens</i> Druce	HP	HC	h/fl	I
Asteraceae	<i>Anthemis cotula</i> L.	HA	TR	h	I
Asteraceae	<i>Baccharis salicifolia</i> (R. et P.) Pers.	A	NF	h	I
Asteraceae	<i>Conyza</i> sp.	HA	TR	h	-
Asteraceae	<i>Pseudognaphalium luteoalbum</i> (L.) Hilliard et B.L. Burt	HA	TR	h	I
Brassicaceae	<i>Hirschfeldia incana</i> (L.) Lagr.-Fossat	HA	TR	h	I
Chenopodiaceae	<i>Atriplex repanda</i> L.	A	NF	h	E
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	HP	HC	h	N
Malvaceae	<i>Sphaeralcea velutina</i> K. Presl.	A	NF	h	E
Onagraceae	<i>Oenothera affinis</i> Cambess.	HB	HC	h/fl	N
Oxalidaceae	<i>Oxalis micrantha</i> Bert. ex Colla	HA	TR	h/fl/fr	N
Papaveraceae	<i>Argemone subfusiformis</i> Ownbey	HA	TR	h	N
Papaveraceae	<i>Eschscholzia californica</i> Cham.	HP	HC	h/fl	I
Papilionaceae	<i>Melilotus indicus</i> (L.) All.	HA	TR	h/fl	N
Poaceae	<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene	HP	CR	h	N
Scrophulariaceae	<i>Verbascum virgatum</i> Stokes	HB	TR	h	I
Área de matorral					
Amaryllidaceae	<i>Rodophiala advena</i> (Ker-Gawl.) Traub	HP	CR	h/b	I
Asteraceae	<i>Antemis cotula</i> L.	HA	TR	h/fl	I
Asteraceae	<i>Baccharis concava</i> (R. Et P.) Pers.	A	NF	h	N
Asteraceae	<i>Baccharis linearis</i> (R. et P.) Pers.	A	NF	h	N
Asteraceae	<i>Pseudognaphalium luteoalbum</i> (L.) Hilliard et B.L. Burt	HA	TR	h	I
Brassicaceae	<i>Hirschfeldia incana</i> (L.) Lagr.-Fossat	HA	TR	h/fl	I
Chenopodiaceae	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	HP	HC	h	N
Malvaceae	<i>Sphaeralcea velutina</i> K. Presl.	A	NF	h	E
Onagraceae	<i>Oenothera affinis</i> Cambess.	HB	HC	h	N
Papaveraceae	<i>Eschscholzia californica</i> Cham.	HP	HC	h/fl	I
Papilionaceae	<i>Astragalus amatus</i> Clos	HP	HC	h/fl	E
Poaceae	<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene	HP	CR	h	N
Portulacaceae	<i>Calandrinia</i> sp.	HA	TR	h/fl	-
Solanaceae	<i>Solanum alphonsii</i> Dunal	HP	NF	h/fl	-
Scrophulariaceae	<i>Verbascum virgatum</i> Stokes	HB	TR	h/fl	I

TABLA 4

Especies identificadas en las áreas de estudio, clasificadas según la concentración de Cu en las biomásas aéreas. Se muestran los promedios de la concentración de Cu con sus respectivas desviaciones estándar en base a tres repeticiones de una muestra compuesta por dos individuos (muestreo de agosto). Concentraciones están expresadas en peso seco

Species identified in the study areas, classified by copper concentration in the shoots. The average of copper concentration and their respective standard deviations of three replicates of a composed by two individuals sample are shown (August sampling). Concentrations are expressed on a dry weight basis

Área y nivel de acumulación	Especie	Cu en la biomasa aérea (mg kg ⁻¹)
Área de escorias		
Media acumulación de Cu (200-600 mg kg ⁻¹)	<i>Baccharis salicifolia</i>	452 ± 26
	<i>Pseudognaphalium luteoalbum</i>	418 ± 22
	<i>Argemone subfusiformis</i>	391 ± 130
	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	368 ± 92
	<i>Atriplex repanda</i>	248 ± 21
	<i>Oxalis micrantha</i>	243 ± -
	<i>Sphaeralcea velutina</i>	208 ± 13
	<i>Anthemis cotula</i>	203 ± -
Baja acumulación de Cu (<200 mg kg ⁻¹)	<i>Verbascum virgatum</i>	185 ± 2,5
	<i>Galenia pubescens</i>	169 ± 27
	<i>Oenothera affinis</i>	158 ± 4,9
	<i>Eschscholzia californica</i>	135 ± 3,2
	<i>Distichlis spicata</i>	151 ± 17
	<i>Conyza</i> sp.	83 ± 4,4
	<i>Hirschfeldia incana</i>	73 ± 16
	<i>Melilotus indicus</i>	68 ± 14
Área de matorral		
Alta acumulación de Cu (601-1.000 mg kg ⁻¹)	<i>Oenothera affinis</i>	614 ± 4,6
Media acumulación de Cu (200-600 mg kg ⁻¹)	<i>Baccharis linearis</i>	314 ± 51
	<i>Baccharis concava</i>	255 ± 29
Baja acumulación de Cu (< 200 mg kg ⁻¹)	<i>Sphaeralcea velutina</i>	177 ± 17
	<i>Pseudognaphalium luteoalbum</i>	167 ± 4,1
	<i>Calandrinia</i> sp.	142 ± 4,3
	<i>Solanum alphonsii</i>	140 ± 8,4
	<i>Astragalus amatus</i>	132 ± 2,9
	<i>Anthemis cotula</i>	113 ± 3,4
	<i>Rodophiala advena</i>	102 ± 3,3
	<i>Verbascum virgatum</i>	77 ± 7,0
	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	58 ± 0,7
	<i>Hirschfeldia incana</i>	58 ± 8,3
	<i>Eschscholzia californica</i>	44 ± 1,1
<i>Distichlis spicata</i>	42 ± -	

Ginocchio (1997) determinó la concentración de cobre foliar en *Argemone subfusiformis*, *Eschscholtzia californica* y *Baccharis linearis* en un estudio sobre la acumulación de Cu en una comunidad vegetal en las cercanías de la Fundición Ventanas, obteniéndose rangos de concentración de 160-780, 45-196 y 275-453 mg kg⁻¹, respectivamente. Estos rangos de concentración son similares a los encontrados en esta investigación.

Por otra parte, existen antecedentes sobre *Hirschfeldia incana*, para la cual se reportó una concentración máxima de 355 mg kg⁻¹ en suelos cercanos a una mina en Cataluña, España (suelos con aproximadamente 5.000 mg kg⁻¹ de Cu total) (Poschenrieder et al. 2001), en contraste con la acumulación de 73 mg kg⁻¹ encontrada en este estudio. Además, *Eschscholtzia californica* ha sido reportada previamente como especie tolerante a altas concentraciones de Cu (Vara & Oliveira 2003), aunque los autores no especificaron las concentraciones de Cu en el suelo ni en los tejidos. También *Distichlis spicata* ha sido encontrada en sitios levemente contaminados por cobre en Montana (Estados Unidos de América), en las cercanías de una fundición (suelos con concentraciones de Cu total de aproximadamente 100 mg kg⁻¹) presentando concentraciones de Cu en la biomasa aérea por sobre 20 mg kg⁻¹ (Producers & Inskeep 1991).

Relación entre las concentraciones de Cu en biomasa aérea y en el suelo

A pesar que el rango de concentración de Cu en las plantas fue amplio en cada área de muestreo, las plantas en el área de escorias de fundición presentaron mayores concentraciones de Cu que las mismas especies muestreadas en el área de matorral (Tabla 4).

El hecho anterior supone una relación entre la absorción de Cu por las plantas y las fuentes de Cu en el suelo. La excepción a lo anterior fue *O. affinis*, ya que presentó una mayor concentración de Cu en el área de matorral que en el área de escorias. Sin embargo, los individuos muestreados se encontraban en distintos estados fenológicos. Específicamente, las muestras de *O. affinis* en el área de matorral se encontraban en estado vegetativo, mientras que las muestras del área de escorias se encontraban en estado reproductivo. El efecto

del estado fenológico sobre la concentración de Cu en las plantas se discute a continuación.

Variación temporal en la concentración de Cu en la biomasa aérea de algunas especies identificadas

El muestreo realizado en diciembre permitió comparar las concentraciones de cobre en las biomásas aéreas de *Chenopodium ambrosioides*, *Sphaeralcea velutina*, *Verbascum virgatum*, *A. subfusiformis* y *O. affinis* en diferentes estados de desarrollo: vegetativo (agosto) versus reproductivo (diciembre) (Fig. 2). Para una misma especie, los individuos muestreados en estado de desarrollo vegetativo presentaron concentraciones de cobre mayores que los individuos muestreados en desarrollo de estructuras reproductivas (flores y/o frutos). Específicamente para *A. subfusiformis* y *O. affinis* (especies de hábito bianual o subperenne) se comprobó que la disminución de las concentraciones de Cu en toda la biomasa aérea, al cambiar el estado fenológico en la planta desde el estado vegetativo al reproductivo, se debió a que las nuevas estructuras desarrolladas presentaron una baja acumulación de Cu (flores y frutos), a excepción de las flores de *O. affinis* (Tabla 5). Además, las hojas de verano por su menor tiempo de desarrollo presentaron una menor concentración de Cu que las hojas de otoño, tal como lo demostraron anteriormente Weis et al. (2003). También Navarro & Navarro (2003) señalan que la absorción de elementos es más rápida e intensa en el período vegetativo, mientras que, en estados posteriores de desarrollo, la absorción tiene menor intensidad, debido al predominio de actividades de síntesis de glúcidos. En definitiva, las nuevas estructuras desarrolladas, de baja acumulación de Cu, causaron que, al considerar toda la biomasa aérea, el promedio de la concentración de Cu disminuyera.

En estado de senescencia, la concentración de Cu en la biomasa aérea de *O. affinis* es aún menor que en estado reproductivo. Esto se debe a que la planta pierde la mayor parte de la biomasa de alta concentración de Cu (hojas de otoño), manteniendo solo las hojas de verano, frutos secos, semillas y el tallo, estructuras que presentan baja concentración de Cu. Además, las hojas de otoño que no han caído presentan también menor concentración de Cu (Tabla 5),

llegando solo a un 35 % del valor que tenían en estado vegetativo. Este hecho puede ser producto de una retranslocación parcial de Cu desde la zona aérea hacia las raíces, al llegar la senescencia, lo que constituye un proceso común de economía de nutrientes en especies perennes y bianuales (Mortvedt et al. 1991), como es el caso de *O. affinis*. Sin embargo, Weis et al. (2003) demostraron, para dos especies palustres: *Spartina alterniflora* y *Phragmites australis* (ambas hierbas perennes rizomatosas) que, en estado de senescencia, *P. australis* retransloca parte del cobre acumulado en las hojas de otoño hacia raíces y rizomas, tal como sucede con *O. affinis*, mientras que *S. alterniflora* lo mantiene en su biomasa aérea (Tabla 5). Este hecho indica que el proceso de retranslocación no afecta a todas las plantas de régimen perenne y debe ser estudiado para cada caso en particular. Marschner (1986) especificó que el proceso de retranslocación se desarrolla solamente en las hojas que emergieron primero en la temporada (en este caso las hojas de otoño), no así en hojas nuevas (en este caso las hojas de verano), tal como sucede en la presente investigación. Otros autores postulan que, en el caso específico del cobre, este tiende a desplazarse desde las hojas viejas a las nuevas y, en algunas especies, también ocurre a

nivel de los frutos (Hocking & Pate 1978, Loué 1988). Sin embargo, esta hipótesis no puede ser confirmada, debido a que en este estudio no se evaluó la movilidad del Cu en condiciones controladas.

En conclusión, la disminución de las concentraciones de cobre en la biomasa aérea de ambas especies está ligada al cambio de estado fenológico (de vegetativo a reproductivo y a senescencia). La disminución en las concentraciones puede ser explicada por el desarrollo de nuevos órganos no acumuladores, pérdida de biomasa acumuladora y/o retranslocación de cobre a estructuras subterráneas.

Por otra parte, a pesar que los tejidos fueron lavados cuidadosamente, las concentraciones de Cu podrían estar sobreestimadas, ya que las partículas de suelo pueden permanecer adheridas a la superficie de las hojas y tallo, sobre todo en plantas con gran número de glándulas resiníferas y tricomas, como *Baccharis linearis* (Ginocchio et al. 2004) y *O. affinis*, respectivamente. Este hecho podría influir tanto en las concentraciones máximas encontradas para estas especies como en las diferencias en estado fenológico (ya que las hojas de otoño han acumulado por más tiempo la contaminación externa).

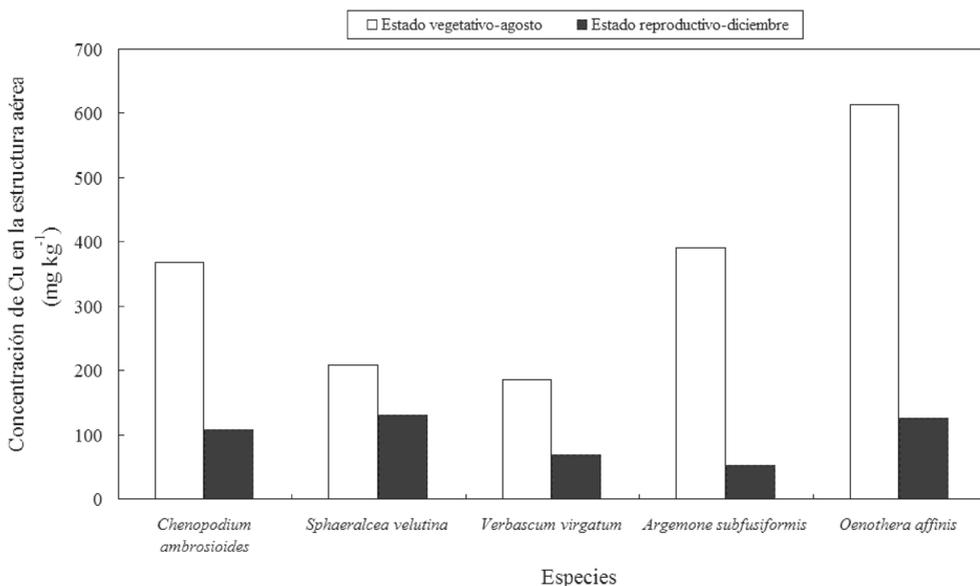


Fig. 2: Variación de la concentración de Cu en la biomasa aérea de las diferentes especies, en función del estado fenológico de la planta.

Variation in Cu concentrations in shoots as a function of the plant phenological stage, for different species.

TABLA 5

Concentraciones de cobre (expresadas al peso seco) en los diferentes tejidos de la biomasa aérea de *A. subfusiformis* y *O. affinis* muestreadas en estado vegetativo y reproductivo. Las hojas de otoño corresponden a las primeras que emergieron, las hojas de verano corresponden a las últimas hojas que emergieron. Adicionalmente se entregan datos obtenidos por otros autores. N/m = no muestreados, N/c = no corresponde al estado fenológico

Copper concentrations (expressed on a dry basis) in different tissues of the above-ground structures of *A. subfusiformis* and *O. affinis* sampled in vegetative and reproductive stages. The fall leaves correspond to the earlier emerged ones, the summer leaves correspond to the later emerged ones. Additional information obtained by other authors is given. N/m = not sampled; N/c = does not correspond to the phenological stage

Especie	Estado fenológico	Concentración de cobre (mg kg ⁻¹)					
		Hojas de otoño	Hojas de verano	Tallo	Frutos	Flores	Biomasa aérea completa
<i>Argemone subfusiformis</i> (área de escorias)	Vegetativo	391	N/c	43	N/c	N/c	391 ± 134
	Reproductivo	429	54,2	43	36	97	52 ± 1,0
	Senescencia	N/m	N/m	N/m	N/m	N/m	-
<i>Oenothera affinis</i> (área matorral)	Vegetativo	614	N/c	50	N/c	N/c	614 ± 25
	Reproductivo	524	318	50	78	493	153 ± 13
	Senescencia	217	338	50	104	N/c	101 ± 19
<i>Spartina alterniflora</i> (Weis et al. 2003)	Senescencia	250	108	N/m	N/c	N/c	175 ± 93
<i>Phragmites australis</i> (Weis et al. 2003)	Senescencia	80	150	N/m	N/c	N/c	110 ± 36

Implicancias para la fitoextracción

Los resultados de esta prospección indican que en el área de Los Maitenes existen especies capaces de tolerar y acumular distintas concentraciones de Cu. Las 22 especies identificadas en el área se clasifican como "pseudometalofitas" (Poschenrieder et al. 2001), ya que son poblaciones de especies comunes en Chile que crecen con mayor frecuencia en suelos no contaminados (e.g., Marticorena & Quezada 1985, Matthei 1995).

Para el caso del cobre, aunque no se identificaron hiperacumuladoras, se identificó una población de *Oenothera affinis* con altas concentraciones de Cu. Esta especie se desarrolla frecuentemente en orillas de caminos como también en praderas degradadas, además, es resistente a la sequía y necesita escasa mantención (Matthei 1995). Estas características la hacen ser una candidata potencial para desarrollar un proceso de fitoextracción a gran escala, donde es preferible utilizar plantas que no requieran manejos agronómicos. Sin embargo, es necesario determinar su producción de biomasa y

comprobar su real capacidad de acumulación de Cu, evitando la contaminación externa de los tejidos. Actualmente, se están cultivando individuos de *O. affinis* y *B. linearis* a partir de semillas en un sitio libre de contaminación atmosférica (ex situ), utilizando suelos provenientes de los sectores de muestreo de esta investigación. De esta forma, a futuro se determinará la absorción real de la planta y se estimará el grado de contaminación externa por partículas adheridas a los tricomas, por comparación con los resultados de esta investigación.

Los resultados referentes a la distribución de Cu a lo largo del desarrollo de la planta evidencian la necesidad de realizar estudios más detallados para entender la dinámica de la absorción, acumulación y retranslocación de Cu en las distintas estructuras de la planta. El conocimiento de esta dinámica beneficiaría directamente la eficiencia de un proceso de fitoextracción, ya que se podría determinar la etapa exacta del desarrollo en que la planta concentra la mayor cantidad de metal en su biomasa aérea, y por tanto, el momento ideal para su cosecha.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el proyecto FONDECYT 1050403. Los autores agradecen los comentarios de Rosanna Ginocchio.

LITERATURA CITADA

- ADRIANO D (1986) Trace elements in terrestrial environments. Springer-Verlag, New York, New York, USA. 533 pp.
- BAKER AJM & RR BROOKS (1989) Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements: A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery* 1: 81-108.
- BRUNO C (1992) El viento y el relieve como factores geográficos determinantes en la dispersión de contaminantes derivados de los procesos productivos del cobre (comuna de Puchuncaví, V Región). Tesis de Magíster en Asentamientos Humanos y Medio Ambiente, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 103 pp.
- DE GREGORI I, E FUENTES, M ROJAS, H PINOCHET & M POTIN-GAUTIER (2003) Monitoring of copper, arsenic and antimony levels in agricultural soils and non-impacted mining activities, from three regions in Chile. *Journal of Environmental Monitoring* 5: 287-295.
- GINOCCHIO R (1997) Aplicabilidad de los modelos de distribución espacio-temporales de la vegetación en ecosistemas sujetos a procesos de contaminación. Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas, Mención Ecología, Departamento de Ecología, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 209 pp.
- GINOCCHIO R (2000) Effects of a copper smelter on a grassland community in the Puchuncaví Valley, Chile. *Chemosphere* 41: 15-23.
- GINOCCHIO R (2004) Solución vegetal. *Induambiente (Chile)* 67: 30-32.
- GINOCCHIO R & A BAKER (2004) Metalofitas en América Latina: un recurso biológico y genético único poco conocido y estudiado en la región. *Revista Chilena de Historia Natural* 77: 185-194.
- GINOCCHIO R, G CARVALLO, I TORO, E BUSTAMANTE, Y SILVA & N SEPÚLVEDA (2004) Micro-spatial variation of soil metal pollution and plant recruitment near a copper smelter in central Chile. *Environmental Pollution* 127: 343-352.
- HOCKING PJ & JS PATE (1978) Accumulation and distribution of mineral elements on the annual lupins *Lupinus albus* L. and *Lupinus angustifolius* L. *Australian Journal of Agricultural Research* 29: 267-280.
- JAFFRÉ T, W KERSTEN, RR BROOKS & R REEVES (1979) Nickel uptake by Flacourtiaceae of New Caledonia. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences* 205: 385-394.
- JOHNSTON MN (1947) *Astragalus* in Argentina, Bolivia and Chile. *Journal of the Arnold Arboretum* 28: 384-385.
- KABATA-PENDIAS A (2004) Soil-plant transfer of trace elements: an environmental issue. *Geoderma* 122: 143-149.
- LEUENBERGER BE & U EGGLI (2002) *Galenia pubescens* (Aizoaceae), new to the South American flora. *Botanische Jahrbucher Systematik* 123: 441-445.
- LOUÉ A (1988) Los microelementos en la agricultura. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 354 pp.
- MALAISSÉ F, A BAKER & S RUELLE (1999) Diversity of plant communities and leaf heavy metal content at Luiswishi copper/cobalt mineralization, Upper Katanga, Democratic Republic of Congo. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 3: 104-114.
- MARSCHNER H (1986) Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, New York, New York, USA. 674pp.
- MARTICORENA C & M QUEZADA (1985) Flora vascular de Chile. *Gayana Botánica (Chile)* 42: 13-157.
- MATTHEI J (1995) Manual de las malezas que crecen en Chile. Alfabeta Impresores, Santiago, Chile. 537 pp.
- MAXWELL J (1968) Rock and mineral analysis. Interscience Publishers, New York, New York, USA. 584 pp.
- MCGRATH SP, CM SIDOLI, AJ BAKER & RD REEVES (1993) The potential for use of metal-accumulating plants for the *in situ* decontamination of metal-polluted soils. En: Eijsackers HJ & T Hamers (eds) *Integrated soil and sediment research: a basis for proper protection: 673-677*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- MORTVEDT JJ, PM GIORDANO & WL LINDSAY (1991) Micronutrientes en agricultura. AGT Editores, Ciudad de México, México. 354 pp.
- NAVARRO S & G NAVARRO (2003) Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 488 pp.
- NAVAS LE (1979) Flora de la cuenca de Santiago de Chile. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. 187 pp.
- POLLARD JA, KD POWELL, FA HARPER & JAC SMITH (2002) The genetic basis of metal hyperaccumulation in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 21: 539-566.
- POSCHENRIEDER C, J BECH, M LLUGANY, A PACE, E FENÉS & J BARCELÓ (2001) Copper in plant species in a copper gradient in Catalonia (north east Spain) and their potential for phytoremediation. *Plant and Soil* 230: 247-256.
- PRODGERS RA & WP INSKEEP (1991) Heavy metal tolerance in inland saltgrass (*Distichlis spicata*). *Great Basin Naturalist* 51: 271-278.
- REEVES R & N ADIGÜZEL (2004) Rare plants and niquel accumulator from Turkish serpentine soils, with special reference to *Centaurea* species. *Turkish Journal of Botany* 28: 147-153.
- SOON YK (1998) Determination of arsenic and mercury in plant tissue. En: Kalra YP (ed) *Handbook of reference methods for plant analysis: 183-192*. CRC Press, Washington, District of Columbia, USA.
- TANG S, B-M WILKE & JW HUANG (1999) The uptake of copper by plants dominantly growing on copper mining spoils along the Yangtze river, the

- People's Republic of China. *Plant and Soil* 209: 225-232.
- VARA MN & HM OLIVEIRA (2003) Metal hyperaccumulation in plants: biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic Journal of Biotechnology* 6: 285-310.
- WEIS J, L WINDHAM & P WEIS (2003) Patterns of metal accumulation in leaves of the tidal marsh plants *Spartina alterniflora* Loisel and *Phragmites australis* (Cav. Trin ex Steud.) over the growing season. *Wetlands* 23: 459-465.

Editor Asociado: José Miguel Fariña

Recibido el 9 de noviembre de 2006; aceptado el 3 de enero 2008

