

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

Memoria de Título

**FITOTOXICIDAD POR ALUMINIO EN SUELOS CERCANOS A UNA
FUNDICIÓN DE COBRE AFECTADOS POR LLUVIA ÁCIDA.**

IVÁN ALEJANDRO GONZÁLEZ LABRA

**Santiago, Chile
2011**

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

Memoria de Título

**FITOTOXICIDAD POR ALUMINIO EN SUELOS CERCANOS A UNA
FUNDICIÓN DE COBRE AFECTADOS POR LLUVIA ÁCIDA.**

**ALUMINUM PHYTOTOXICITY IN SOILS NEAR A COOPER SMELTER
AFFECTED BY ACID RAIN.**

IVÁN ALEJANDRO GONZÁLEZ LABRA

**Santiago, Chile
2011**

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO**

**FITOTOXICIDAD POR ALUMINIO EN SUELOS CERCANOS A UNA
FUNDICIÓN DE COBRE AFECTADOS POR LLUVIA ÁCIDA.**

Memoria para optar al título profesional de:
Ingeniero Agrónomo
Mención: Manejo de Suelos y Aguas

Iván Alejandro González Labra

PROFESORES GUÍA	Calificaciones
Sra. María Adriana Carrasco Rimassa Químico, M. Sc.	7,0
Sr. Juan Pablo Fuentes Espoz Ingeniero Forestal, M. Sc., Ph.D.	7,0
PROFESORES EVALUADORES	
Sra. María Teresa Varnero Moreno Químico-Farmacéutico	6,8
Sr. Arturo Campos Mackenzie Ingeniero Agrónomo, M. Sc.	6,5

**Santiago, Chile
2011**

AGRADECIMIENTOS

Primero que todo, quiero dar gracias a Dios por haber puesto en mi camino a todas las personas que me han ayudado en la realización de esta Memoria; a mis profesores guía, amigos y familia, ya que sin ellos nada de esto sería posible. Gracias a todos por su aliento, apoyo y cariño.

Agradezco a la señora María Adriana Carrasco, mi profesora guía, por su apoyo, buen trato y excelente disposición durante el desarrollo de este trabajo. Gracias por aclarar siempre mis dudas, por sus enseñanzas, por sus críticas constructivas y por la libertad que me entregó en el desarrollo del trabajo.

Al señor Juan Pablo Fuentes, gracias por ser un excelente profesor guía, preocupado por los avances del trabajo y siempre realizando observaciones para mejorarlo. Gracias por darme la posibilidad de asistir a un congreso internacional, una excelente experiencia en la vida que siempre atesoraré.

A las señoras Marisol, Consuelo y Cristina; gracias por la ayuda que me brindaron durante la etapa de laboratorio. Gracias por la buena voluntad y su simpatía.

Gracias a los amigos que me ayudaron en la realización de este trabajo: Víctor “Pantera” Vargas, Hugo “Colorado” Sepúlveda, Luís Felipe Román, Evelyn Hermosilla, Patricio “Pato Galán” Robles, Ignacio Gübeli, Patricio “Ciego” Guerrero y Julio Donati; sin ustedes el resultado del trabajo no hubiese sido el mismo. También quiero agradecerles a mis amigos que han estado conmigo durante estos años en la Universidad y han hecho que sean los mejores de mi vida; “Seba”, “Manu”, “Jure”, “Conejito” y “Canopia”, gracias por todas las alegrías y excelentes recuerdos. A tantos otros amigos que se quedan en el tintero, pero es imposible nombrarlos a todos, gracias por su amistad y por compartir tantos buenos momentos; a mis amigos del colegio, a los muchachos del laboratorio de física de suelos, encabezados por el profesor Óscar Seguel; al resto de los amigos de la Universidad y a mis amigos de la vida, gracias a todos.

A mi familia, estaré infinitamente agradecido de todo lo que han hecho por mí; por sus enseñanzas, su amor y amistad. Gracias por haber estado siempre que los necesité a mi lado. A mi padre, gracias por enseñarme a querer el campo y la naturaleza; a mi madre, gracias por tu preocupación y dedicación a nuestra familia; a Camilo, Sergio y Doris, gracias por su apoyo; a Fernanda, gracias por tu apoyo y compañía; gracias también a mis abuelos, tíos y primos por quererme y estar conmigo siempre.

Dedico esta Memoria a todos ustedes, costó más de lo que pensaba, pero aquí está.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	11
2. ABSTRACT.....	12
3. INTRODUCCIÓN.....	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
4.1. Descripción del sitio de muestreo de suelos.....	17
4.1.1. Suelos.....	19
4.1.2. Clima.....	21
4.2. Descripción de las especies.....	21
4.2.1. Avena (<i>Avena sativa</i> L. cv. Nehuén).....	21
4.2.2. Cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Libra).....	21
4.2.3. Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L. var. capitata cv. Cuatro Estaciones).....	21
4.3. Descripción de las semillas.....	22
4.3.1. Pruebas de viabilidad.....	22
4.4. Diseño experimental.....	22
4.5. Variables medidas.....	23
4.5.1. Medición de pH.....	23
4.5.2. Variables de fitotoxicidad.....	24
4.5.2.1. Bioensayos de germinación.....	24
4.6. Análisis estadístico.....	25
4.6.1. Valores de pH.....	25
4.6.2. Valores de las variables de fitotoxicidad.....	26
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
5.1. Medición de pH.....	27
5.1.1. pH en H ₂ O.....	27
5.1.2. pH en CaCl ₂	31
5.2. Variables de fitotoxicidad.....	33
5.2.1. Porcentaje de germinación relativo (PGR).....	33
5.2.1.1. Avena (<i>Avena sativa</i> L. cv. Nehuén).....	33

5.2.1.2. Cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Libra).....	34
5.2.1.3. Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>capitata</i> cv. Cuatro Estaciones).....	35
5.2.1.4. Discusión general del PGR.....	36
5.2.2. Crecimiento radical relativo (CRR).....	37
5.2.2.1. Avena (<i>Avena sativa</i> L. cv. Nehuén).....	37
5.2.2.2. Cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Libra).....	38
5.2.2.3. Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>capitata</i> cv. Cuatro Estaciones).....	40
5.2.2.4. Discusión general del CRR.....	42
5.2.3. Sintomatología visual.....	44
5.2.4. Índice de germinación (IG).....	48
5.2.4.1. Avena (<i>Avena sativa</i> L. cv. Nehuén).....	48
5.2.4.2. Cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Libra).....	50
5.2.4.3. Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>capitata</i> cv. Cuatro Estaciones).....	51
5.2.4.4. Discusión general del IG.....	53
5.2.5. Biomasa radical (BR).....	55
5.2.5.1. Avena (<i>Avena sativa</i> L. cv. Nehuén).....	55
5.2.5.2. Cebada (<i>Hordeum vulgare</i> L. cv. Libra).....	56
5.2.5.3. Lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L. var. <i>capitata</i> cv. Cuatro Estaciones).....	56
5.2.5.4. Discusión general de la BR.....	57
6. CONCLUSIONES.....	59
7. BIBLIOGRAFÍA.....	61
8. ANEXOS.....	69
9. APÉNDICES.....	72

Índice de cuadros

Cuadro 1: Ubicación de los sitios de muestreo de suelos cercanos a la fundición de Caletones.....	18
Cuadro 2: Algunas propiedades de los suelos.....	20
Cuadro 3: Identificación y localización de cada situación.....	23

Índice de figuras

Figura 1: Ubicación de los sitios de muestreo de suelos respecto a la fundición de cobre de Caletones.....	18
Figura 2: Valores de pH en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	28
Figura 3: Valores de pH-H ₂ O medidos en los años 2007 y 2009 en las doce situaciones estudiadas en cuanto a profundidad de muestreo y distancia a la fundición.....	29
Figura 4: Relación entre concentración de aluminio intercambiable y el pH-H ₂ O (2009) de los suelos en estudio.....	30
Figura 5: Valores de pH-CaCl ₂ en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	31
Figura 6: Valores de pH-CaCl ₂ y pH-H ₂ O en las doce situaciones estudiadas en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición.....	32
Figura 7: Relación entre concentración de aluminio intercambiable y el pH-CaCl ₂ de los suelos en estudio.....	33
Figura 8: Valores del PGR para avena en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	34
Figura 9: Valores del PGR para cebada en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	35
Figura 10: Valores del PGR para lechuga en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	36
Figura 11: Valores del CRR para avena en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	37
Figura 12: Relación entre CRR para avena y concentración de aluminio intercambiable del suelo.....	38
Figura 13: Relación entre CRR para avena y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.....	38
Figura 14: Valores del CRR para cebada en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	39

Figura 15: Relación entre CRR para cebada y concentración de aluminio intercambiable del suelo.....	39
Figura 16: Relación entre CRR para cebada y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.....	40
Figura 17: Valores del CRR para lechuga en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	41
Figura 18: Relación entre CRR para lechuga y concentración de aluminio intercambiable del suelo.....	41
Figura 19: Relación entre CRR para lechuga y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.....	42
Figura 20: Valores del CRR para avena, cebada y lechuga en las doce situaciones estudiadas en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición.....	43
Figura 21: Sintomatología visual de la fitotoxicidad por aluminio en avena.....	45
Figura 22: Sintomatología visual de la fitotoxicidad por aluminio en cebada.....	46
Figura 23: Sintomatología visual de la fitotoxicidad por aluminio en lechuga.....	47
Figura 24: Valores del IG para avena en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	48
Figura 25: Relación entre el IG para avena y la concentración de aluminio intercambiable del suelo.....	49
Figura 26: Relación entre el IG para avena y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.....	49
Figura 27: Valores del IG para cebada en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	50
Figura 28: Relación entre el IG para cebada y la concentración de aluminio intercambiable del suelo.....	51
Figura 29: Relación entre el IG para cebada y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.....	51
Figura 30: Valores del IG para lechuga en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	52

Figura 31: Relación entre IG para lechuga y concentración de aluminio intercambiable del suelo.....	52
Figura 32: Relación entre el IG para lechuga y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.....	53
Figura 33: Valores del IG para avena, cebada y lechuga para las doce situaciones estudiadas en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición.....	54
Figura 34: Valores de la BR para avena en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	55
Figura 35: Valores de la BR para cebada en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	56
Figura 36: Valores de la BR para lechuga en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones.....	57

Índice de anexos

Anexo I. Términos descriptivos y efectos esperables en cada rango de pH-H ₂ O del suelo.....	69
Anexo II. Valores de pH-H ₂ O obtenidos por Lemus (2008).....	70
Anexo III. Interpretación de análisis químico de suelos.....	70
Anexo IV. Modelo de simulación del mecanismo de tolerancia a la fitotoxicidad por aluminio.....	71

Índice de apéndices

Apéndice I. Factores e interacciones para pH-H ₂ O.....	72
Apéndice II. Coeficiente de correlación de Spearman para valores de pH y concentraciones de aluminio.....	73
Apéndice III. Factores e interacciones para pH-CaCl ₂	74
Apéndice IV. Factores e interacciones para el PGR.....	75

Apéndice V. Coeficiente de correlación de Spearman para las variables de fitotoxicidad.....	76
Apéndice VI. Relaciones entre PGR de avena, cebada y lechuga; con las concentraciones de aluminio e hidrógeno intercambiable del suelo.....	77
Apéndice VII. Pruebas de Kruskal-Wallis del CRR.....	80
Apéndice VIII. Factores e interacciones para el IG.....	81
Apéndice IX. Factores e interacciones para la BR.....	82
Apéndice X. Relaciones entre BR de avena, cebada y lechuga; con las concentraciones de aluminio intercambiable del suelo.....	83
Apéndice XI. Prueba de Kruskal-Wallis para BR de lechuga.....	86

1. RESUMEN

Los suelos circundantes a la fundición de cobre de Caletones presentan altos niveles de aluminio intercambiable debido a la acidificación que han sufrido por la lluvia ácida, generada a partir de los gases emitidos por la fundición. Con el objetivo de determinar si estas concentraciones de aluminio generan fitotoxicidad, y observar cómo es ésta, en relación a la distancia a la fuente de emisión de gases generadores de lluvia ácida y a la profundidad de muestreo, se tomaron muestras en cuatro sitios a distancias crecientes desde la fundición (D1 = 2,8 km; D2 = 3,9 km; D3 = 6,6 km y D4 = 7,2 km, este último usado como control) y a tres profundidades (P1 = 0-5 cm; P2 = 5-10 cm; y P3 = 10-20 cm), generándose doce situaciones. A partir de las muestras se prepararon extractos de suelo para realizar bioensayos de germinación con semillas de avena (*Avena sativa* L. cv. Nehuén), cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Libra) y lechuga (*Lactuca sativa* L. var. capitata cv. Cuatro Estaciones), como bio-indicadores. Luego de 120 horas de incubación de las semillas en oscuridad a una temperatura de 25 ± 1 °C se determinó el porcentaje de germinación relativo (PGR), el crecimiento radical relativo (CRR), el índice de germinación (IG) y la biomasa radical (BR) en base materia seca (mg MS raíces por semilla germinada).

Para las tres especies, el CRR y el IG mostraron una alta correlación negativa con las concentraciones de aluminio intercambiable, mientras que el PGR y la BR no mostraron correlación, por lo que no se recomienda su uso en estudios de este tipo. A través del CRR y el IG se pudo observar la alta fitotoxicidad (CRR e IG menores o iguales al 50%) que provoca el aluminio intercambiable hasta la distancia de 6,6 km (D3). También se pudo observar la variación de la fitotoxicidad con la profundidad del suelo, siendo significativamente menor en el estrato más profundo.

Entre las especies utilizadas como bio-indicadores la más tolerante fue la avena y la más sensible la lechuga. La avena y la cebada mostraron las correlaciones más altas entre sus valores CRR e IG con las concentraciones de aluminio en el suelo, presentando la cebada, en ambos casos, los mayores coeficientes de determinación, por lo que se la considera como el mejor bio-indicador del estudio.

Palabras clave: aluminio intercambiable, *Avena sativa* L. cv. Nehuén, *Hordeum vulgare* L. cv. Libra, *Lactuca sativa* L. var. capitata cv. Cuatro Estaciones, bioensayos de germinación, índice de germinación.

2. ABSTRACT

The aim of this study was focused on the determination of aluminum phytotoxicity in soils affected by acid rain, associating the degree of phytotoxicity with the distance from the source of emission-generating acid rain and soil depth. Three different species of plants were also used to test the best bio-indicator of aluminum toxicity for the soils of the area: oat (*Avena sativa* L. cv. Nehuén), barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Libra) and lettuce (*Lactuca sativa* L. var. capitata cv. Cuatro Estaciones).

Soil samples were taken at four distances from the copper smelter Caletones (D1 = 2,8 km; D2 = 3,9 km; D3 = 6,6 km; and D4 = 7,2 km, the last one was used as control), and from three depths (P1 = 0-5 cm; P2 = 5-10 cm; and P3 = 10-20 cm). Soil solution from the samples were extracted and used in a bioassay of germination where the determination of the relative germination percentage (RGP), relative root growth (RRG), germination index (GI) and root biomass (RB) expressed as dry matter (mg root DM per germinated seed) were considered important aspects in this bioassay. Only RRG and GI had significant and negative correlation with the concentration of exchangeable aluminum in the three species. Aluminum phytotoxicity was observed in three sites near the smelter - D1, D2, and D3- with values $\leq 50\%$, which is considered as a high phytotoxicity level. On the other hand, the most distant site, D4, showed RRG and GI values greater than 80 %. These indexes were the highest, for all sites in the deeper layer (P3).

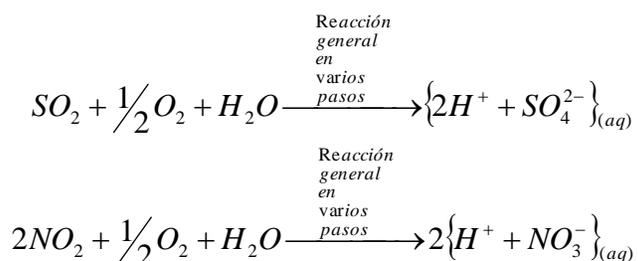
Oat was the most aluminum resistant specie, being lettuce the most sensible to aluminum phytotoxicity. Barley had a better correlation between GI values with aluminum concentrations, thereby it was considered as the best bio-indicator of aluminum phytotoxicity in this research.

Key words: exchangeable aluminum, *Avena sativa* L. cv. Nehuén, *Hordeum vulgare* L. cv. Libra, *Lactuca sativa* L. var. capitata cv. Cuatro Estaciones, bioassay of germination, germination index.

3. INTRODUCCIÓN

La minería del cobre es la principal actividad económica de Chile, siendo el rubro que aporta más dividendos a las arcas fiscales. En el año 2008 las exportaciones del metal rojo alcanzaron el 60,4% del total de las exportaciones del país (INE, CHILE, 2009), sin embargo los importantes beneficios económicos que la minería del cobre brinda al país traen consigo algunos efectos adversos para el medio ambiente.

Una de las principales consecuencias de la minería del cobre es la lluvia ácida que se genera en el entorno de sus fundiciones, cuando las emisiones de óxidos de nitrógeno (NO_x) y dióxido sulfuroso (SO_2) se oxidan en la atmósfera y luego reaccionan con la humedad del aire, generando ácido sulfúrico (H_2SO_4) y ácido nítrico (HNO_3). Estos ácidos son depositados en los distintos ecosistemas junto con la lluvia, nieve, granizo, niebla e incluso rocío (Manahan, 1999; Nagase y Silva, 2007). Manahan (1999) explica la génesis de la lluvia ácida mediante las siguientes reacciones químicas:



Según Evans (1984) se considera una lluvia como ácida cuando presenta una concentración de iones H^+ superior a $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ y un valor de pH inferior a 5,6. El pH de la lluvia ácida se encuentra, generalmente, entre 4,0 y 4,5; pero puede llegar a valores tan bajos como 2,0 (Brady y Weil, 2002).

La lluvia ácida es uno de los agentes más dañinos para la biota del planeta debido a que afecta a todos los ecosistemas donde se deposita. Por ejemplo acidifica lagos, ríos, océanos y suelo; provocando con ello una alteración en el hábitat de distintos organismos (Cummins, 1993). La lluvia ácida es uno de los principales agentes acidificantes de los suelos (Cummins, 1993; Bloom, 2000; Bohn, *et al.*, 2001), por lo tanto es un proceso que genera degradación del suelo y de las plantas que en él se sustentan (Gragani *et al.*, 1998; Ginocchio *et al.*, 2004; Ouyang *et al.*, 2008). Sobre la vegetación puede causar necrosis en hojas y tallos (Sant'anna-Santos *et al.*, 2006), además de daños en las raíces cuando ésta infiltra en el suelo.

Durante años los suelos circundantes a la fundición de cobre de Caletones, Región del Libertador Bernardo O'Higgins, Chile ($34^{\circ}06' \text{ S}$; $70^{\circ}27' \text{ W}$), han estado expuestos a los efectos de la lluvia ácida provocada por las constantes emisiones de dióxido de azufre y

dióxido de nitrógeno desde la fundición a la atmósfera. Lemus (2008) estudió la degradación química y biológica en los suelos cercanos a la fundición de Caletones, concluyendo que la contaminación producida durante casi un siglo por la actividad de dicha fundición ha generado una serie de alteraciones en los suelos circundantes como disminuciones en el pH; los cationes no ácidos (Ca^{2+} , K^+ y Na^+); la saturación básica; el carbono orgánico; los macronutrientes en los horizontes superficiales; y la capacidad de intercambio catiónico (CIC), debido a la disminución del carbono orgánico. La contaminación ha generado altos niveles de aluminio intercambiable, concordando con lo visto en suelos de otras partes del mundo cercanos a fundiciones (Burt *et al.*, 2003; Viventsova *et al.*, 2005).

El catión dominante en los sitios de intercambio de los coloides en suelos ácidos es el aluminio (Bohn *et al.*, 2001). La toxicidad del aluminio generalmente es el problema más común y severo de los suelos de pH menor de 5,5 afectando tanto a plantas, mesofauna y microorganismos edáficos (Sadzawka, 2006). Se considera que el efecto del aluminio es el más dañino, por sobre hidrógeno o manganeso, por el aumento de su concentración en la solución suelo en torno a esos valores de pH (Wright, 1989; Ritchie, 1989; citados por Borie *et al.*, 1992). En el año 2008, Lemus determinó en su estudio que el pH de los suelos, medido en agua destilada, variaba desde ultra ácido (< 3,5) hasta muy fuertemente ácido (4,5-5,0), según clasificación dada por Brady y Weil (2002).

El aluminio no tiene una función biológica específica en las plantas, sin embargo, afecta el desarrollo vegetal cuando se encuentra biodisponible (Poschenrieder *et al.*, 2008), siendo el mayor factor limitante para el crecimiento de las plantas (Álvarez *et al.*, 2005; Guo *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2007), de la fauna edáfica (Phillips y Bolger, 1998) y de la biomasa microbiana (Joner *et al.*, 2005). Lo anterior se debe a que el aluminio es un elemento anfótero; es decir que dependiendo de los valores de pH del suelo puede comportarse como ácido o como base, es así que cuando el pH está por valores inferiores a 5,5 el aluminio se encuentra como Al^{3+} , el cual es el catión trivalente más fuerte de la naturaleza debido a su alta densidad de carga, lo que provoca que sea el mejor competidor por los sitios de intercambio en los coloides del suelo. Cuando los valores de pH están por sobre el valor 5,6 el aluminio se encuentra en formas hidroxiladas o precipitado (Marion *et al.*, 1976; citado por Bohn *et al.*, 2001), por lo que no presenta efecto tóxico alguno para la biota edáfica.

Las plantas evidencian el efecto tóxico del aluminio principalmente en las raíces. Existen diversas teorías de cómo el aluminio afecta el normal desarrollo radical, por una parte la disminución en el crecimiento de las raíces de las plantas se debería a que el aluminio afectaría la síntesis y transporte de auxinas (Kollmeier *et al.*, 2000; Barceló y Poschenrieder, 2002). Se ha visto en plántulas de cebada que las menores concentraciones de auxinas están en aquellas que crecieron en medios con mayores concentraciones de aluminio (Abdalla, 2008). A nivel celular, el aluminio afecta el normal funcionamiento del aparato de Golgi y la síntesis de ADN (Rout *et al.*, 2001). También afecta la organización de los microtúbulos del citoesqueleto y la polimerización de la tubulina (Frantzios *et al.*, 2000), lo que se relaciona estrechamente con la expansión celular (Zheng y Yang, 2005). Se ha visto que el aluminio provoca además degradación en los tilacoides del cloroplasto,

lo que se traduce en una reducción de las clorofilas A y B (Abdalla, 2008), disminuyendo con ello las tasas fotosintéticas.

Es sabido que la respuesta al aluminio varía entre especies y cultivares, generándose así los conceptos de resistencia y sensibilidad. Barceló y Poschenrieder (2002) clasifican los mecanismos de resistencia al aluminio en dos grupos; el primero corresponde a todos aquellos mecanismos que excluyen al aluminio de las células de la raíz, mientras que el segundo corresponde a aquellos mecanismos que permiten que la planta tolere al aluminio una vez que éste ha ingresado. Dentro de los mecanismos del primer grupo están la exclusión de moléculas de bajo peso molecular para la quelación del aluminio, la modificación del pH rizosférico, la unión del aluminio a la pared celular, la disminución de la permeabilidad de la membrana a la penetración del aluminio y la unión del aluminio al mucílago del ápice de la raíz; mientras que dentro de los mecanismos de tolerancia están la quelación del aluminio con moléculas al interior de la célula, la unión del aluminio con proteínas en el citoplasma y la compartimentación. La mayoría de estos mecanismos han sido propuestos a partir de observaciones puntuales (Garzón, 2003). Para Poschenrieder *et al.* (2008), las principales dificultades para comparar datos de la literatura, en cuanto a la resistencia de especies o cultivares al aluminio, son las variaciones experimentales en la carga tóxica y la respuesta de la planta estudiada a factores tales como la disponibilidad de nutrientes y a factores inherentes a la planta misma como la edad de ésta y la especie o cultivar usado.

Se ha observado cómo especies de áreas tropicales pueden llegar a contener un 1% de aluminio en su peso, en base a materia seca, en cambio los cereales como trigo, avena, cebada, sorgo y maíz no lo pueden hacer, por lo que estas especies utilizan mecanismos de exclusión del aluminio para poder desarrollarse (Inostroza-Blancheteau *et al.*, 2008). En estudios realizados con arroz se ha observado que los cultivares que presentan mayor resistencia a la toxicidad por aluminio son aquellos que exudan mayores cantidades de ácido cítrico y ácido málico desde el ápice radical (Costa de Macêdo *et al.*, 2001). Inostroza-Blancheteau *et al.* (2008) indican también al ácido oxálico como un exudado de la raíz que permite a los cereales resistir al aluminio. Particularmente el ácido cítrico aumenta la disponibilidad de fósforo en el suelo (Delhaize *et al.*, 2007), la que se ve afectada cuando hay altas concentraciones de aluminio.

Delhaize y Ryan (1995) explican que la exudación de ácidos orgánicos es un mecanismo de exclusión para resistir al aluminio, ya que estos ácidos actúan como quelantes, fijando al metal. La unión quelante entre los ácidos orgánicos y el aluminio es bastante estable. La mayor estabilidad la presentan los complejos Al-citrato, seguidos por los complejos Al-oxalato y Al-malato, los cuales son insolubles y no están disponibles para ser absorbidos por las raíces de las plantas. Se ha observado experimentalmente que las raíces de plantas que crecen en soluciones de Al-citrato presentan longitudes significativamente mayores que aquellas que crecen en soluciones de $AlCl_3$, pero son sólo levemente menores que aquellas que crecen en un medio sin aluminio, mientras que las raíces desarrolladas en soluciones Al-malato sólo presentan una longitud levemente mayor a aquellas desarrolladas en $AlCl_3$,

y, finalmente, las que crecieron en una solución de Al-oxalato mostraron un crecimiento levemente menor a las desarrolladas en soluciones de Al-citrato (Ma *et al.*, 2001).

Al producirse cambios en las propiedades de los suelos por la lluvia ácida, los cuales además generan alteraciones en las condiciones de vida de los organismos, cobra especial interés el estudio de los efectos de los contaminantes en la biósfera y sus constituyentes, incluidos los humanos. Estos tipos de estudios son denominados como estudios de ecotoxicidad (Newman, 1998).

Dentro de los diversos análisis de ecotoxicidad existentes, y con el propósito de evaluar el efecto de un agente contaminante en la biosfera, generalmente se utiliza el método del bio-monitoreo. Este método se basa en la medición de características en un determinado organismo indicador del efecto de un contaminante específico. Otras técnicas de evaluación de la ecotoxicidad se basan en la aplicación de bio-marcadores, los cuales pueden ser a nivel celular, de tejidos o fluidos fisiológicos (Newman, 1998). El uso de plantas vasculares para ensayos de ecotoxicidad es recomendado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de Norteamérica (EPA, sigla en inglés) y por la Agencia de Administración de Drogas y Alimentos (FDA, sigla en inglés) del mismo país (Kapustka y Reporter, 1993).

En este trabajo se estudió específicamente la fitotoxicidad que genera el aluminio intercambiable presente en altas concentraciones en los suelos circundantes a la fundición de cobre de Caletones, es decir cómo el aluminio intercambiable afecta el desarrollo de la vida vegetal, mediante un tipo de bio-monitoreo denominado bioensayo de germinación, utilizando como organismos indicadores semillas de avena (*Avena sativa* L. cv. Nehuén), cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Libra), y lechuga (*Lactuca sativa* L. var. capitata cv. Cuatro Estaciones). Estas tres especies han sido utilizadas en variados ensayos de fitotoxicidad en Chile (e.g. Díaz *et al.*, 1998; Peñaloza *et al.*, 2004; Varnero *et al.*, 2007). La realización de bioensayos de germinación presenta como principal ventaja que se requiere un menor volumen de muestra de suelo (Ianaconne *et al.*, 2000).

Mediante los bioensayos de germinación de las semillas de estas tres especies se espera probar la hipótesis de que en estos suelos se genera fitotoxicidad por aluminio intercambiable, asociado a la disminución del pH provocado por la lluvia ácida, y que ésta es mayor mientras más superficialmente haya sido tomada la muestra de suelo y a menores distancias respecto de la fuente de las emisiones causantes de este fenómeno.

Es por lo anterior que los objetivos de este trabajo son: a) evaluar el posible efecto fitotóxico del aluminio intercambiable de los suelos cercanos a la fundición de Caletones; b) establecer si existe relación entre fitotoxicidad y distancia a la fuente de emisión, y entre fitotoxicidad y profundidad de muestreo; y c) determinar cuál de las tres especies utilizadas (avena, cebada, lechuga) es el mejor bio-indicador para evaluar fitotoxicidad por aluminio intercambiable en suelos ácidos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Química de Suelos del Departamento de Ingeniería y Suelos, en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile y en el Laboratorio de Suelos Ventura Matte H. de la Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile.

En el estudio se utilizaron semillas de avena (*Avena sativa* L. cv. Nehuén), cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Libra) y lechuga (*Lactuca sativa* L. cv. Cuatro Estaciones), además de las muestras de suelo de cuatro sitios circundantes a la fundición de cobre de Caletones.

4.1. Descripción del sitio de muestreo de suelos

Las muestras de suelo corresponden a las utilizadas por Lemus (2008) en un estudio sobre degradación química y biológica en suelos cercanos a la fundición de cobre Caletones. El muestreo se llevó a cabo en noviembre del año 2006. Las muestras fueron colectadas en cuatro sitios, considerando distancias crecientes a la fundición de cobre Caletones, Región del Libertador Bernardo O'Higgins, Chile, como muestra la Figura 1.

Los sitios muestreados fueron Caletones (D1), Barahona Robinia (D2), Barahona Embalse (D3) y Los Cóndores (D4); este último utilizado como control por encontrarse fuera del área de influencia de la pluma (nube gaseosa) generada por las emisiones desde la fundición, ubicados a 2,8; 3,9; 6,6; y 7,2 km de distancia de la fundición, respectivamente (Cuadro 1). Todos los sitios se ubican en un rango de alturas entre los 1650 y 1780 msnm, para evitar variaciones de factores ambientales que afectasen los resultados.

En cada sitio de muestreo se extrajeron nueve muestras compuestas a tres profundidades: P1, de 0 a 5 cm; P2, de 5 a 10 cm y P3 de 10 a 20 cm. Cada muestra compuesta se generó a partir de, a lo menos, 10 submuestras de alrededor de 100 cm³ de volumen. Las submuestras se mezclaron en terreno generando una muestra compuesta que fue trasladada y mantenida a 4° C hasta su secado al aire y tamizaje a 2 mm. Estas muestras estuvieron almacenadas desde el año 2006 al 2009 en el Laboratorio de Suelos Ventura Matte H. de la Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile.

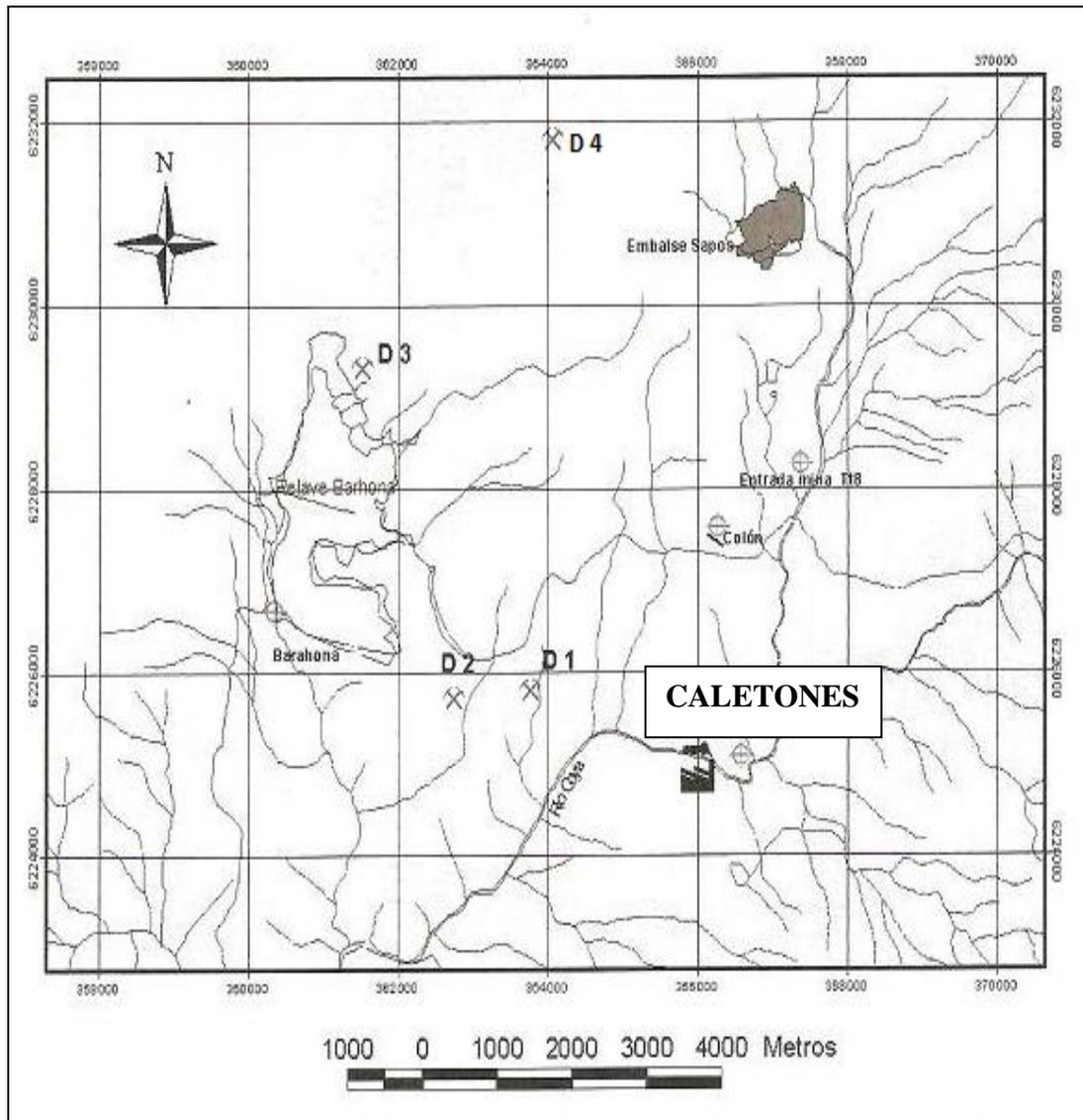


Figura 1: Ubicación de los sitios de muestreo de suelos respecto a la fundición de cobre de Caletones. Fuente: Lemus, 2008.

Cuadro 1: Ubicación de los sitios de muestreo de suelos cercanos a la fundición de Caletones.

Localidad	Identificación	Distancia a la fundición (km)	Altitud (m)
Caletones	D1	2,8	1650
Barahona Robina	D2	3,9	1690
Barahona Embalse	D3	6,6	1713
Los Cóndores	D4	7,2	1777

4.1.1. Suelos

En términos taxonómicos, los suelos muestreados pueden ser clasificados dentro del Orden de los Inceptisols, ya que presentan un desarrollo incipiente de un horizonte B. Son suelos con alta pedregosidad, con un régimen de temperatura térmico y un régimen de humedad xérico¹. En la zona cordillerana donde se ubican los suelos de este estudio, no existen reconocimientos de suelos, por lo que, tanto la clasificación taxonómica dentro del Orden de suelos y sus regímenes térmicos y de humedad se establecen a partir de observaciones puntuales, es así que se determina que el régimen de temperatura es térmico, considerando la información entregada por Santibáñez y Uribe (1996), en el que la temperatura media anual es de 9,6 °C, aunque por las variaciones en altitud y la falta de estudios no sería errado clasificar a estos suelos dentro de un régimen frígido², y se clasifica el régimen de humedad como xérico debido a que éste es característico de áreas con climas mediterráneos, es decir inviernos fríos y húmedos y veranos cálidos y secos (Luzio *et al.*, 2006).

Según Luzio *et al.* (2010) todos los suelos de los sectores cordilleranos de la zona mediterránea árida (32° LS – 37°45' LS) deberían considerarse en Clase VIII de Capacidad de Uso, es decir, de preservación de la naturaleza sin intervención del hombre.

El Cuadro 2 muestra algunas propiedades físicas y químicas de los suelos muestreados. Todas las propiedades de los suelos se determinaron el año 2007 en el Laboratorio de Suelos Ventura Matte H. de la Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza de la Universidad de Chile. La metodología para la determinación de las propiedades se detalla en Lemus (2008).

Según los rangos entregados por el INIA, CHILE (2011), los valores de pH de los suelos (medidos en agua destilada, en suspensión 1:2,5 p/v) varían entre extremadamente ácido (menor o igual a 4,5) y muy fuertemente ácido (4,6 y 5,0).

Todos los suelos muestreados presentan valores de pH bajos y niveles de aluminio intercambiable altos (Cuadro 2) debido a la alteración provocada por la lluvia ácida.

¹ Juan Pablo Fuentes Espoz, Ing. Forestal, M. Sc., Ph.D., profesor Edafología Forestal, Facultad de Ciencias Forestales y Conservación de la Naturaleza, Universidad de Chile, 2009 (comunicación personal).

² Walter Luzio Leigton, Ing. Agrónomo, M. Sc., profesor Evaluación de Suelos, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile, 2009 (comunicación personal).

Cuadro 2: Algunas propiedades de los suelos.

Profundidad cm	Distancia km	pH ⁽¹⁾	CO %	N _{total} mg kg ⁻¹	P mg kg ⁻¹	K %	Arcilla ⁽²⁾ %	Na	K	Complejo de intercambio										CBM ⁽³⁾ mgC/100g
										Ca	Mg	CIC	Al	CICE	SB ⁽⁴⁾	SAI ⁽⁴⁾				
0-5	2,8	3,77	1,97	22	20	133	17,8	0,07	0,34	1,55	3,12	33	10,3	15,4	10	67,0	0,391			
5-10	2,8	3,79	2,61	10	13	151	19,5	0,08	0,39	6,27	2,39	33	7,8	16,9	28	46,2	0,373			
10-20	2,8	4,28	2,73	10	12	203	27,6	0,16	0,52	18,25	5,56	38	0,96	25,3	65	3,8	0,450			
0-5	3,9	3,42	1,36	32	20	78	19,9	0,09	0,20	6,11	2,41	32	10,7	19,5	26	54,9	0,384			
5-10	3,9	3,56	1,89	29	18	83	20,8	0,08	0,21	4,62	1,87	32	10,2	17,0	20	60,0	0,244			
10-20	3,9	3,70	2,15	25	18	108	22,7	0,11	0,28	8,20	2,98	33	7,7	23,8	45	32,3	0,362			
0-5	6,6	3,44	2,47	89	36	262	19,0	0,10	0,67	7,02	1,33	41	12,4	21,5	22	57,7	0,716			
5-10	6,6	3,62	2,43	45	33	317	25,6	0,11	0,81	11,11	1,73	46	11,2	25,0	31	44,9	0,347			
10-20	6,6	3,93	3,79	31	35	413	30,7	0,14	1,06	20,53	3,16	47	6,0	30,9	52	19,4	0,559			
0-5	7,2	4,50	10,2	19	47	754	17,1	0,14	1,93	27,24	3,89	56	0,27	33,5	59	0,8	2,066			
5-10	7,2	4,76	7,55	13	48	819	23,7	0,16	2,10	26,78	3,54	48	0,13	32,7	68	0,4	1,049			
10-20	7,2	5,01	5,74	13	40	927	24,7	0,19	2,37	31,54	3,86	43	0,02	38,8	88	0,1	0,646			

⁽¹⁾ pH en agua; ⁽²⁾ Fracción < 2 µm; ⁽³⁾ Saturación básica; ⁽⁴⁾ Saturación de Al; ⁽⁵⁾ Carbono biomásico.

Fuente: Lemus (2008).

4.1.2. Clima

El clima del sector donde se realizó el muestreo de suelos es del tipo templado infratermal estenotérmico mediterráneo semiárido, ocupando la posición de baja cordillera. Se caracteriza por temperaturas promedios que varían entre una máxima de 22,7 °C en verano (enero) y una mínima de 1,5 °C en invierno (julio), con una temperatura media anual de 9,6 °C. Las precipitaciones se concentran principalmente entre los meses de mayo y agosto, teniendo como promedio anual los 839 mm y un período seco de siete meses (Santibáñez y Uribe, 1996).

4.2. Descripción de las especies

4.2.1. Avena (*Avena sativa* L. cv. Nehuén)

Esta especie es miembro de la familia *Poaceae*. El cultivar fue desarrollado por el Instituto de Investigación Agropecuaria (INIA, CHILE) en la Estación Experimental Carillanca. Su cultivo está principalmente destinado a la obtención de grano. Tiene hábito de desarrollo alternativo, precoz, alcanza alturas entre 115 y 140 cm. Tolera bastante bien suelos pesados y ácidos, pudiendo desarrollarse sin problemas en suelos con valores de pH hasta 5,2 (Faiguenbaum, 2003). Esta especie ha sido usada en Chile en estudios del efecto del aluminio en la elongación radical (Borie *et al.*, 1994) y para evaluar fitotoxicidad de herbicidas suelo-activos (Díaz *et al.*, 1998).

4.2.2. Cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Libra)

Especie perteneciente a la familia *Poaceae*. Este cultivar en particular fue desarrollado por INIA, CHILE y la Compañía de Cervecerías Unidas (CCU) para la elaboración de cerveza. Es un cultivar de hábito primaveral que se cultiva desde Aconcagua a Osorno y que se adapta a una gran variedad de suelos, sin embargo es uno de los cereales más sensibles a la toxicidad por aluminio, por lo que se recomienda su cultivo en suelos con valores de pH mayores a 5,9 (Faiguenbaum, 2003). En el país ha sido usada para evaluar fitotoxicidad por aluminio (Peñaloza *et al.*, 2004).

4.2.3. Lechuga (*Lactuca sativa* L. var. capitata cv. Cuatro Estaciones)

Es una especie de la familia *Asteraceae*. Perteneciente a las denominadas lechugas “arrepolladas”, debido a que forman un cogollo apretado de hojas más consistentes. Es poco tolerante a la acidez, se desarrolla bien en suelos con valores de pH entre 6,0 y 7,0 (Maroto, 1995). En Chile se ha usado para la evaluación de fitotoxicidad en residuos

orgánicos durante el compostaje y en lodos aplicados al suelo (Rojas *et al.*, 2005; Celis *et al.*, 2006; Celis *et al.*, 2007).

Estas tres especies se encuentran dentro del listado de especies de plantas vasculares recomendadas por la EPA y la FDA de Estados Unidos para ser usadas como organismos indicadores en estudios de ecotoxicidad (Kapustka y Reporter, 1993).

4.3. Descripción de las semillas

Las semillas de avena y cebada utilizadas eran corrientes y no estaban tratadas con productos desinfectantes. En ambos casos las semillas fueron envasadas en junio de 2009. Las semillas de lechuga estaban tratadas con Thiram, envasadas en agosto de 2009.

4.3.1. Pruebas de viabilidad

Debido a que las semillas de estas tres especies estuvieron almacenadas por varios meses desde su envasado hasta su utilización como organismos indicadores de fitotoxicidad por aluminio, se realizaron pruebas de viabilidad, ya que se sabe que el almacenaje y el tratamiento de semillas con productos fitosanitarios afecta el porcentaje de semillas germinadas (Encalada, 1978).

Diez semillas colocadas en una cápsula de Petri con papel filtro Whatmann N° 3 embebido con 10 mL de agua destilada se incubaron por 120 horas a una temperatura de 25 ± 1 °C. Para evitar la pérdida de humedad las cápsulas fueron colocadas dentro de bolsas de polietileno. Cada prueba de viabilidad se realizó con cuatro repeticiones.

Las semillas de las tres especies se consideraron viables, debido a que los porcentajes de germinación obtenidos fueron 97,5%, 62,5% y 70%, para avena, cebada y lechuga, respectivamente. Si bien el porcentaje de germinación de la cebada es bajo, concuerda con lo visto por Perveen *et al.* (2008), quienes registraron un 35% de germinación en similares condiciones.

4.4. Diseño experimental

Se consideró un diseño factorial con dos factores, D x P; en el que D es distancia a la fundición (4) y P es profundidad de muestreo (3), lo que da un total de 12 situaciones, con las cuales se realizaron dos mediciones de pH (en H₂O y CaCl₂) y tres bioensayos de germinación (uno con cada especie). El detalle de las situaciones se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3: Identificación y localización de cada situación

Situación	Distancia a la fundición (km)	Profundidad de muestreo (cm)
<i>Caletones</i>	D1	
S1		0-5 (P1)
S2	2,8	5-10 (P2)
S3		10-20 (P3)
<i>Barahona Robinia</i>	D2	
S4		0-5
S5	3,9	5-10
S6		10-20
<i>Barahona Embalse</i>	D3	
S7		0-5
S8	6,6	5-10
S9		10-20
<i>Los Cóndores</i>	D4	
S10		0-5
S11	7,2	5-10
S12		10-20

4.5. Variables medidas

4.5.1. Medición de pH

Se midió, en cada situación, el pH en agua destilada (pH-H₂O) en una suspensión suelo/agua destilada de 1:2,5 p/v (Sadzawka *et al.*, 2006). Esta medición se realizó con el fin de verificar si el almacenamiento de las muestras secadas al aire y tamizadas a 2 mm, por un período de dos años (desde la primera medición en 2007 hasta la segunda medición en 2009) tenía algún efecto sobre los valores de pH obtenidos por Lemus (2008).

Posteriormente se midió el pH en CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ (pH-CaCl₂) en cada una de las situaciones, usando una suspensión de suelo/solución de 1:2,5 p/v (Sadzawka *et al.*, 2006). Actualmente se está optando por medir el pH-CaCl₂ porque el resultado es independiente de la concentración salina inicial y de la relación suelo/solución usada en la medición, además, la concentración de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ es casi equivalente a la concentración total de electrolito en la solución de un suelo no salino. El pH-CaCl₂ refleja mejor el pH en torno a las raíces de las plantas y disminuye el efecto de suspensión debido a que el ión Ca²⁺ floccula la suspensión del suelo (Sadzawka, 2006). Tanto el pH-H₂O como el

pH-CaCl₂ se midieron en un medidor de pH análogo, marca Corning, modelo 7. En ambos casos se realizaron tres mediciones y sólo se informa el valor promedio, obtenido a partir de las concentraciones de H⁺.

4.5.2. Variables de fitotoxicidad

Estas variables fueron medidas en tres bioensayos de germinación, uno con cada especie estudiada.

4.5.2.1. Bioensayos de germinación. Para cada situación se prepararon extractos acuosos de suelo en una relación de 1:5 p/v. Se colocaron 10 g de suelo seco y tamizado a 2 mm en un vaso plástico de 150 mL, al cual se le agregaron 50 mL de agua destilada (Zuconni *et al.*, 1981). Los extractos se separaron mediante centrifugación a 4900 rpm durante cinco minutos. Se tomó una alícuota de 10 mL de cada extracto, que se colocó en una cápsula de Petri con papel filtro Whatmann N° 3. Este papel se caracteriza por: 1) ser de trama amplia y porosa, que asegura una buena retención del líquido; 2) tener fibras resistentes que hacen que las radículas crezcan por la superficie sin atravesarlo, lo que ayuda a no dañar las plántulas al retirarlas de la cápsula de Petri; y 3) la ausencia de residuos tóxicos (Sobero y Ronco, 2004). Sobre el papel ya embebido del extracto se colocaron, con la ayuda de una pinza, diez semillas de una misma especie con una separación tal que permitiera la elongación de la radícula. Se utilizó un testigo para cada ensayo usando agua destilada y la misma cantidad de semillas que en los extractos. Luego las cápsulas fueron tapadas y se colocaron dentro de bolsas de polietileno para evitar la pérdida de humedad durante la incubación. El proceso de incubación fue de 120 horas, tiempo en el cual las semillas estuvieron a oscuras a una temperatura de 25 ± 1°C. Se realizaron cuatro repeticiones de acuerdo a lo recomendado por Kapustka y Reporter (1993).

Finalizado el período de incubación se determinó el índice de germinación (IG) que permite evaluar la toxicidad aguda, que afecta a la germinación, y la toxicidad baja, que afecta el crecimiento de la radícula (Tiquia *et al.*, 1996). El IG se determinó en función del porcentaje de germinación relativo (PGR) y crecimiento radical relativo (CRR), a través de las siguientes expresiones:

$$PGR(\%) = \frac{G \times 100}{G_t} \quad \text{Ex. [1];}$$

Donde G es el promedio de semillas germinadas en el extracto; G_t es el promedio de semillas germinadas en el testigo de agua destilada.

$$CRR(\%) = \frac{L \times 100}{L_t} \quad \text{Ex. [2];}$$

Donde L es el largo promedio de las raíces en el extracto (mm); y L_t (mm) es el largo promedio de las raíces en agua destilada.

$$IG(\%) = \frac{PGR(\%) \times CRR(\%)}{100} \quad \text{Ex. [3]}$$

Se consideró que una semilla estaba germinada cuando ésta tenía a la vista la radícula, momento en el cual se considera que la germinación está completa (Matilla, 2008). Para facilitar la medición de la longitud de las raíces, éstas se colocaron sobre un papel milimetrado, donde se realizó la medición (Sobero y Ronco, 2004).

Según Zucconi *et al.* (1981) es posible clasificar a un agente fitotóxico dentro de tres niveles dependiendo del valor IG del bio-indicador. Es así que hay elementos que generan fitotoxicidad alta ($IG \leq 50\%$); fitotoxicidad moderada ($50\% < IG \leq 80\%$); y fitotoxicidad baja ($80\% < IG < 100\%$). Valores de IG iguales al 100% indican que no hay fitotoxicidad. Valores IG superiores al 100% indican que el elemento en estudio beneficia el desarrollo vegetal.

Una vez obtenidos el PGR, CRR y el IG, se procedió a determinar la biomasa radical (BR). Para ello, el total de las raíces de cada placa de Petri se colocó en estufa a 70 °C durante 24 horas (Sadzawka *et al.*, 2004). Luego se determinó la masa de las radículas secas en una balanza analítica con una precisión de $\pm 0,1$ mg, obteniendo con ello la BR en base a materia seca (MS) por placa de Petri y finalmente se determinó la MS por semilla germinada.

A través del PGR, CRR, IG y de la BR obtenidos en cada bioensayo de germinación, se comparó la fitotoxicidad del aluminio intercambiable entre las doce situaciones.

4.6. Análisis estadístico

4.6.1. Valores de pH

Toda la analítica estadística se realizó con las concentraciones de H^+ . En ambas mediciones (en H_2O y $CaCl_2$) se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) con una confianza del 95% para determinar las diferencias estadísticas significativas en relación a la distancia a la fundición y profundidad de muestreo. En el caso de encontrarse diferencias significativas se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$), previa corroboración de normalidad y homocedasticidad de los datos con las pruebas Anderson-Darling y Bartlett, respectivamente.

Para determinar diferencias estadísticas significativas entre el pH medido en este estudio con el pH medido en 2007, se realizó una prueba de hipótesis T pareada con una confianza del 95%. El objetivo de esta prueba era demostrar que el pH no sufre cambios significativos al estar almacenado el suelo en condición seca, para así poder usar los valores de aluminio

intercambiable obtenidos por Lemus (2008) en la analítica de los resultados de fitotoxicidad.

Se determinó el coeficiente de correlación de Spearman entre los valores de pH-H₂O, pH-CaCl₂ y la concentración de aluminio del suelo, con una confianza del 99% (valor crítico tabulado $\pm 0,727$). Para observar la relación entre los contenidos de aluminio del suelo y los valores de pH (H₂O y CaCl₂) se realizaron regresiones simples.

4.6.2. Valores de las variables de fitotoxicidad

En cuanto a las variables de fitotoxicidad PGR e IG se realizó un ANDEVA con un 95% de confianza, previa transformación angular de Bliss de los datos, para determinar diferencias estadísticas significativas en cuanto a la distancia a la fundición y profundidad de muestreo; cuando se detectaron diferencias se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ($p \leq 0,05$). Se realizó el mismo procedimiento para la BR de avena y cebada, pero sin transformar los datos.

En el caso del CRR, para las tres especies se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($\alpha \leq 0,05$) para determinar diferencias significativas en cuanto a la distancia de la fundición y a la profundidad de muestreo. Se debió realizar esta prueba ya que, en el caso de la avena y lechuga, fue imposible homogenizar las varianzas; y en el caso de la cebada fue imposible normalizar los datos con la transformación angular de Bliss. Se realizó la misma prueba para la BR de lechuga, ya que tampoco fue posible normalizar los datos mediante transformaciones.

La correlación entre las variables de fitotoxicidad y las concentraciones de aluminio intercambiable del suelo, pH y concentración de hidrógeno se determinó mediante el coeficiente de correlación de Spearman, el cual se realizó con un 99% de confianza, siendo el valor crítico tabulado $\pm 0,727$. Cuando se encontró correlación significativa se graficó mediante regresiones simples.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las muestras de suelo del presente estudio provienen del estudio realizado por Lemus (2008) a las cuales, entre otros análisis, se les determinó pH en agua. Para verificar si habían ocurrido cambios, por el almacenamiento de los suelos, se procedió a medir nuevamente el pH en agua y también se midió pH en CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. A continuación se analizan y discuten los resultados.

5.1. Medición de pH

5.1.1. pH en H_2O

La medición de pH en agua destilada en suspensión 1:2,5 p/v, nos indica que, según la clasificación de Brady y Weil (2002) que se muestra en el Anexo I, todos los suelos son ácidos, variando desde ultra ácido a muy fuertemente ácido.

Se observan diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) entre las concentraciones de H^+ tanto con la distancia a la fundición como con la profundidad de muestreo (Figura 2). Las mayores concentraciones de H^+ , y con ello los valores de pH más bajos, se encuentran en los sitios más cercanos a Caletones (distancias D1, D2 y D3), la fuente de emisión de gases generadores de lluvia ácida, y en los estratos más superficiales (profundidades P1 y P2); por otro lado, se observa que en el sitio más distante de la fuente de emisión (distancia D4) y en el estrato más profundo (profundidad P3), el pH es considerablemente menos ácido. Es posible observar también la interacción entre los factores distancia y profundidad, puesto que el pH aumenta para una misma distancia a medida que la profundidad aumenta.

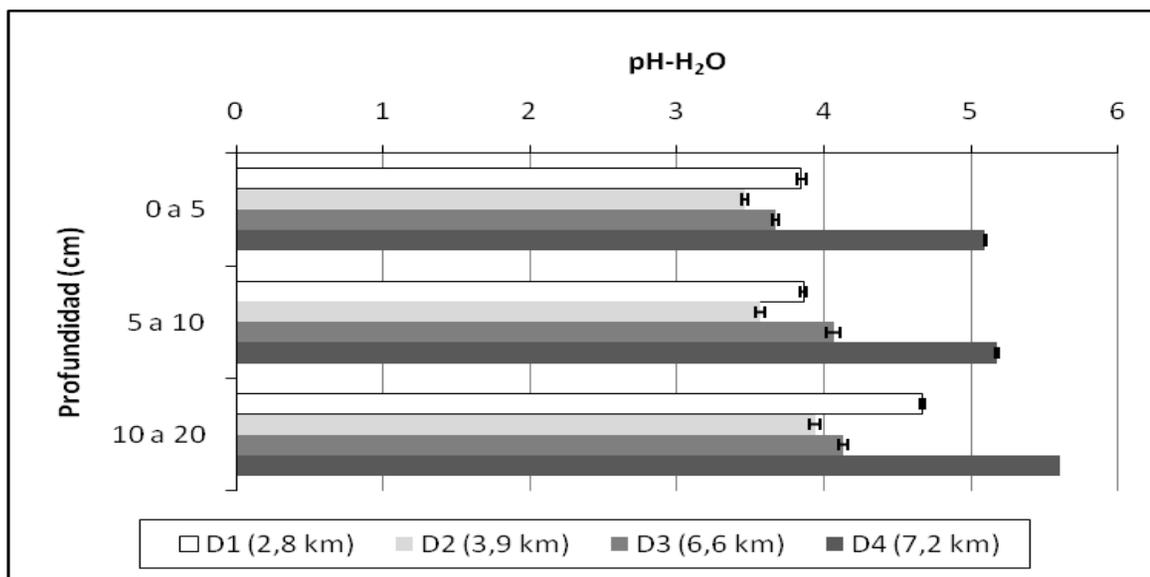


Figura 2: Valores de pH en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Los resultados de pH concuerdan con los de Lemus (2008), mostrados en el Anexo II. Claramente valores tan bajos de pH se deben a una alteración de la acidez del suelo provocada por actividades antrópicas, en este caso la lluvia ácida consecuencia de las actividades de la fundición de Caletones, ya que en la Región del L. B. O'Higgins no se han descrito otros suelos que se puedan clasificar como extremadamente ácidos (CIREN, CHILE, 1996; Luzio *et al.*, 2010).

El pH en la situación 3 (D1 x P3) es significativamente mayor que los otros valores para D1 (ver Apéndice I) y no está dentro del rango de valores para los otros sitios más cercanos a la fundición de Caletones (D2 y D3). La respuesta a este comportamiento está en la génesis de la lluvia ácida. Hay una serie de reacciones químicas que generan compuestos ácidos a partir de SO_2 y NO_2 (Manahan, 1999), por lo cual la depositación ácida es mayor en D2 y D3, ya que al llegar la nube de contaminación a esas distancias los compuestos han tenido más tiempo para reaccionar. Al ocurrir la depositación principalmente como agua nieve puede afectar a estratos más profundos. En el caso de D1 hay un menor efecto de la depositación ácida puesto que ha habido menor formación de compuestos ácidos, al haber un menor volumen de depositación el efecto en profundidad también es menor, lo que explica el resultado obtenido en D1 x P3. Complementando lo anterior, también hay un efecto provocado por el viento. André *et al.* (2007) observaron cómo el viento transportó nubes de gases generadores de lluvia ácida desde centros industriales a zonas remotas sin actividad industrial, encontrándose disueltos en el agua de la lluvia iones SO_4^{2-} . En este caso el viento también transportaría parte de la nube de gases, lo que explicaría por qué el efecto de la depositación ácida se observa mayormente en D2 y D3.

Se compararon los resultados de pH con los de Lemus (2008) medidos el año 2007 (Figura 3) y, luego de realizar la prueba de hipótesis T pareada para las concentraciones molares de

H^+ , se encontró que las diferencias entre los resultados de ambos años no son significativas ($p > 0,05$) para las situaciones 1 (D1 x P1), 2 (D1 x P2), 4 (D2 x P1), 5 (D2 X P2), 7 (D3 x P1) y 9 (D3 x P3); y si lo son ($p \leq 0,05$) para las situaciones 3 (D1 x P3), 6 (D2 x P3), 8 (D3 x P2), 10 (D4 x P2) 11 (D4 x P2) y 12 (D4 x P3).

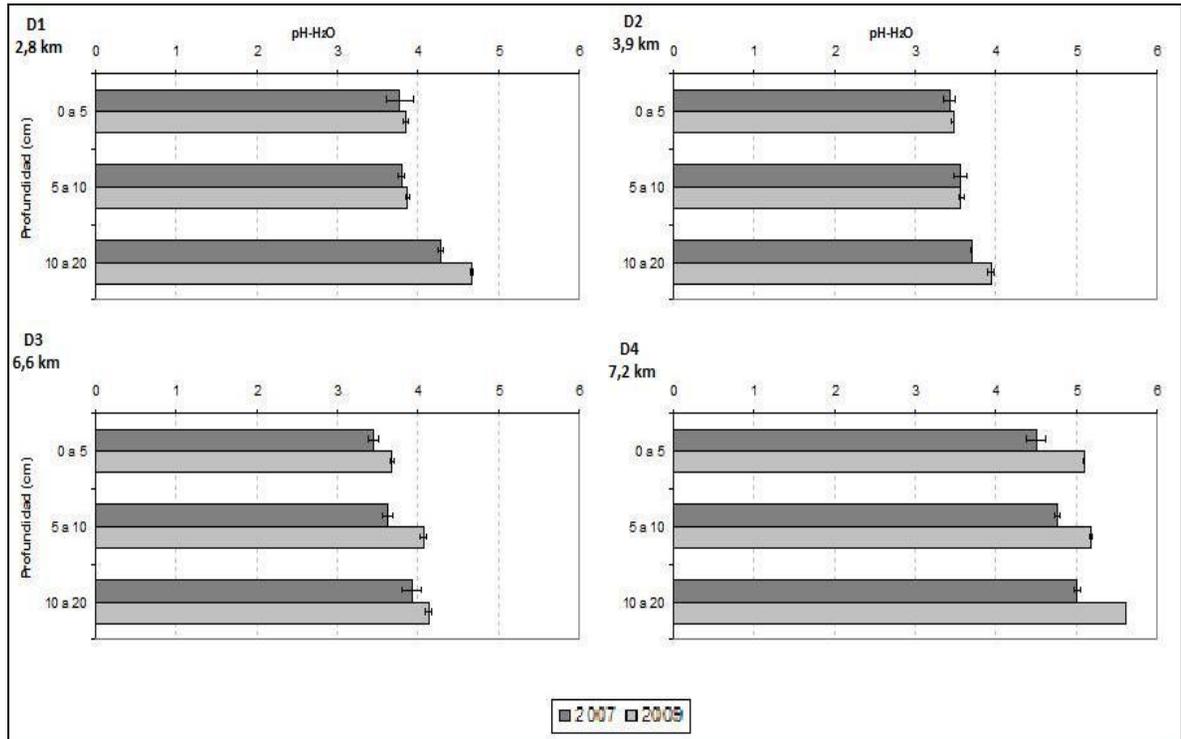


Figura 3: Valores de pH-H₂O medidos en los años 2007 y 2009 en las doce situaciones estudiadas en cuanto a profundidad de muestreo y distancia a la fundición. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Se observa que los resultados de este estudio presentan valores ligeramente más altos, sin embargo, las tendencias de los valores son prácticamente las mismas en cuanto a distancia y profundidad.

Los resultados con respecto del almacenamiento de los suelos son similares a los descritos por Slattery y Burnett (1992); y por De Nobili *et al.* (2006), los cuales encontraron que el pH del suelo aumentaba levemente cuando éste se almacenaba seco. Resultados distintos se presentan cuando el suelo se almacena húmedo, ya que se ha visto en estos casos que el pH del suelo disminuye (Bartlett y James, 1980; Davey y Conyers, 1988). La diferencia entre el comportamiento de un suelo que se almacena húmedo y otro que se almacena seco se debería a que, en el primer caso, se mantendría la actividad microbiana, lo cual se traduce en una disminución de los valores de pH debido a la liberación de CO₂, consecuencia directa de la actividad de los microorganismos edáficos.

La variación en el pH de un suelo almacenado, ya sea aumento o disminución, puede estar relacionada con el tipo de suelo, el contenido de arcilla, la biomasa microbiana y las reacciones relacionadas con la oxidación orgánica en el suelo (Slattery y Burnett, 1992). En este caso el contenido de arcilla del suelo podría influir directamente, ya que las situaciones que tuvieron variaciones estadísticamente significativas en los valores de pH presentan altos contenidos de arcilla (sobre 17% de arcilla) como muestra el Cuadro 2. El aumento en el pH podría deberse a que al secarse el suelo los iones H^+ son retenidos por las partículas de arcilla, por lo que al medir el pH posteriormente hay una menor concentración en solución, por lo que se obtienen valores de pH significativamente más altos.

La relación entre los niveles de aluminio intercambiable y el pH del suelo es un hecho bien documentado en la literatura (Bloom, 2000; Bohn, *et al.*, 2001) y se señala que en los suelos con pH menor a 5,5 se puede presentar el problema de toxicidad, el que es más severo a medida que el pH se acidifica más (Yamamoto *et al.*, 1996; Brady y Weil, 2002; Sadzawka, 2006). Al correlacionar los niveles de aluminio intercambiable del estudio de Lemus (2008) con los valores de pH-H₂O medidos en el desarrollo de este estudio, es posible observar que la correlación es significativa y negativa (Apéndice II). La Figura 4 muestra la relación entre la concentración de aluminio intercambiable y el pH del suelo, ajustándose la tendencia de los datos a una curva exponencial.

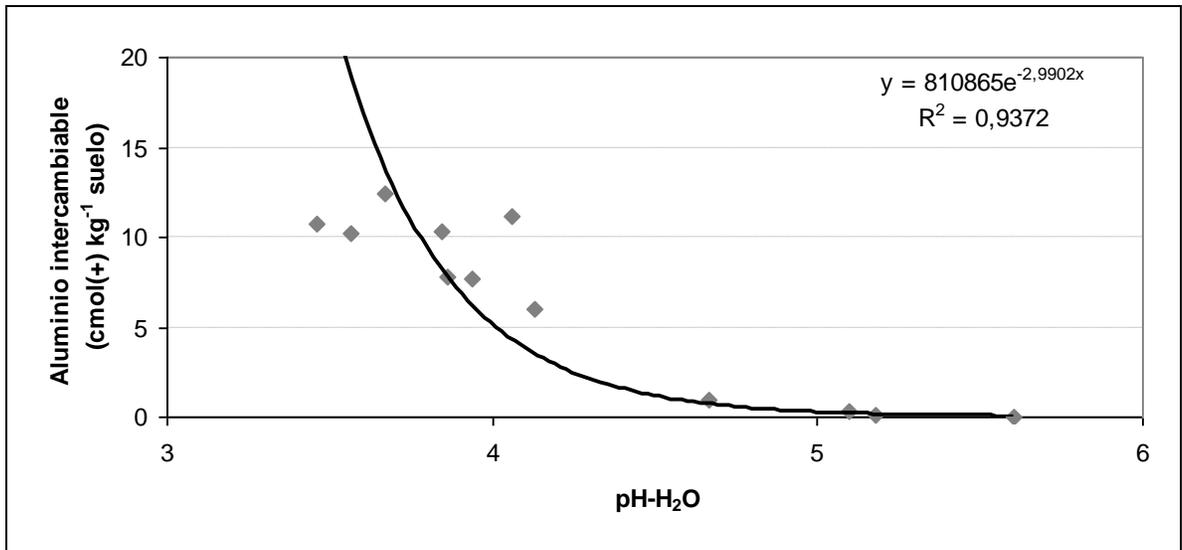


Figura 4: Relación entre concentración de aluminio intercambiable y el pH-H₂O (2009) de los suelos en estudio.

La correlación entre las concentraciones de aluminio en el suelo y los valores de pH-H₂O continúa siendo alta, aún cuando el pH aumentó entre 0,08 y 0,6 unidades, con un promedio de 0,28 unidades, luego de dos años de tener el suelo almacenado, desde la primera medición en 2007 hasta la segunda medición en 2009, por lo que para fines experimentales se consideró que los niveles de aluminio medidos por Lemus (2008) son válidos para la discusión de los bioensayos de germinación (ver concentraciones de aluminio en Cuadro 2).

Es posible observar que a valores de pH inferiores a 5,0 existen concentraciones de aluminio que, según los rangos entregados por INIA, CHILE (2011), que se muestran en el Anexo III, se consideran muy altas (superiores a $0,81 \text{ cmol}(+) \text{ kg}^{-1}$ suelo). La dispersión de los datos entre pH 3,5 y 4,0 se explicaría porque a estos niveles de acidez, parte del aluminio encontrado como intercambiable proviene de la disolución parcial de las arcillas, que igualmente contribuye a la toxicidad por aluminio.

5.1.2. pH en CaCl_2

Se observan diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$) en cuanto a la distancia a la fundición y a la profundidad de muestreo (Figura 5). Los valores de pH en el sitio D4 son significativamente superiores al resto, además se observa que el estrato más profundo tiene valores significativamente superiores a los superficiales. También es posible observar que para una misma distancia, el pH aumenta con la profundidad.

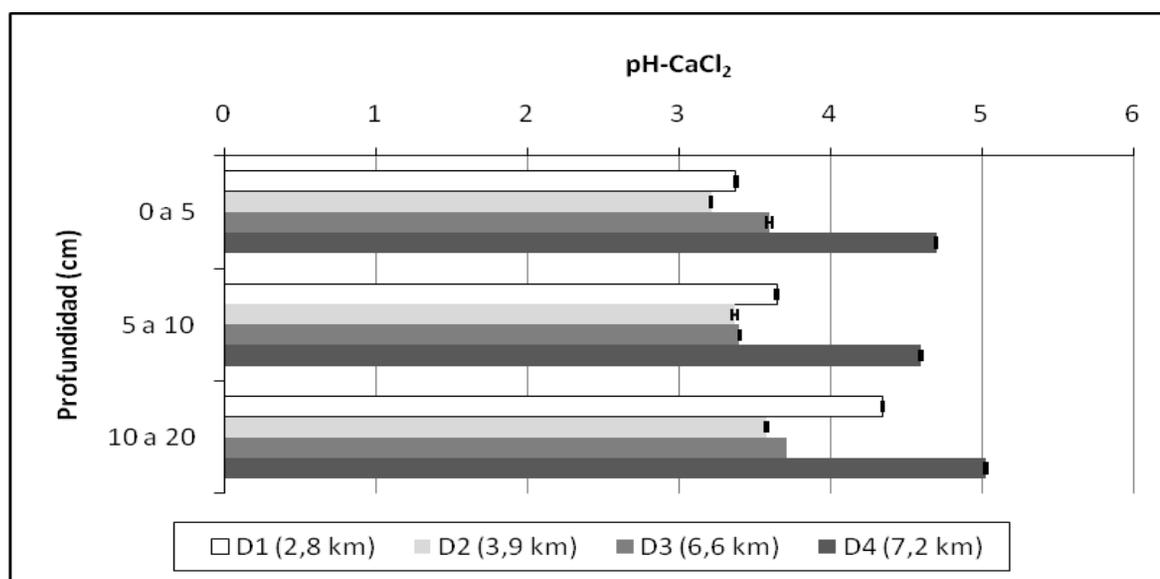


Figura 5: Valores de pH- CaCl_2 en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Según los rangos de pH- CaCl_2 entregados por INIA, CHILE (2011), que son mostrados en el Anexo III, los suelos se clasifican como extremadamente ácidos; fuertemente ácido; y moderadamente ácido (ver valores en Apéndice III). Al igual que en la medición de pH- H_2O , los sitios más cercanos a la fundición de cobre de Caletones (D1, D2 y D3), presentan los valores más bajos de pH, por lo que están en el rango clasificado como extremadamente ácido, a excepción de la situación 3 (D1 x P3) que, como se dijo anteriormente, ha sufrido un menor grado de alteración en sus propiedades químicas debido a la naturaleza de la depositación ácida.

La Figura 6 muestra la comparación de pH- CaCl_2 con pH- H_2O . Es posible notar que ambos muestran la misma tendencia en cuanto a la distancia de la fundición y la

profundidad de muestreo, aunque los valores de pH-CaCl₂ son más bajos, lo cual es un hecho esperable, ya que varios estudios lo demuestran (Sadzawka *et al.*, 2000; Filipová *et al.*, 2010). Brady y Weil (2002) explican este hecho por la liberación de una porción de la acidez de intercambio hacia la acidez activa del suelo por parte de los iones Ca²⁺.

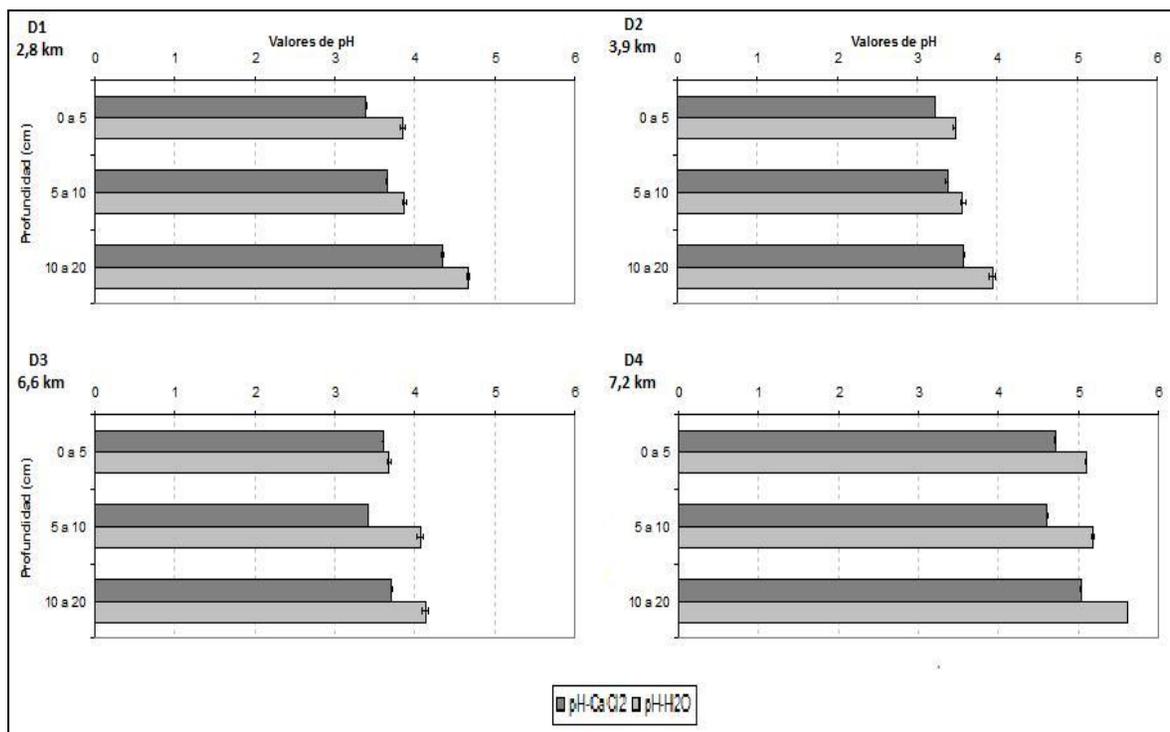


Figura 6: Valores de pH-CaCl₂ y pH-H₂O en las doce situaciones estudiadas en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Las diferencias entre los valores de pH en H₂O y CaCl₂ van desde 0,07 hasta 0,66 unidades, con un promedio de 0,37 (ver valores en Apéndices I y III), sin embargo, la mayor parte de las situaciones muestra diferencias entre 0,2 y 0,5 unidades, que es generalmente la magnitud de la diferencia entre pH-H₂O y pH-CaCl₂ de los suelos (Brady y Weil, 2002). Tanto Sadzawka *et al.* (2000) como Filipová *et al.* (2010) obtuvieron en sus estudios una diferencia de 0,3 unidades entre pH-H₂O y pH-CaCl₂. Se observa cómo la diferencia es más estrecha a valores de pH más ácidos, un hecho observado también por Aguirre (2001) en suelos de la zona sur de Chile. Lo anterior se debe principalmente a que el ión Al³⁺ ocupa gran parte de los sitios de intercambio en los coloides, por sobre el H⁺, a medida que el pH disminuye, y debido a su alta densidad de carga no puede ser desplazado por el ión Ca²⁺, desplazándose a la solución sólo los iones H⁺, que son los que finalmente provocan la disminución en los valores de pH.

La Figura 7 muestra la relación entre la concentración de aluminio intercambiable y los valores de pH-CaCl₂. Al igual que en la relación entre aluminio y pH-H₂O, el mejor ajuste de tendencia de los datos es una curva exponencial.

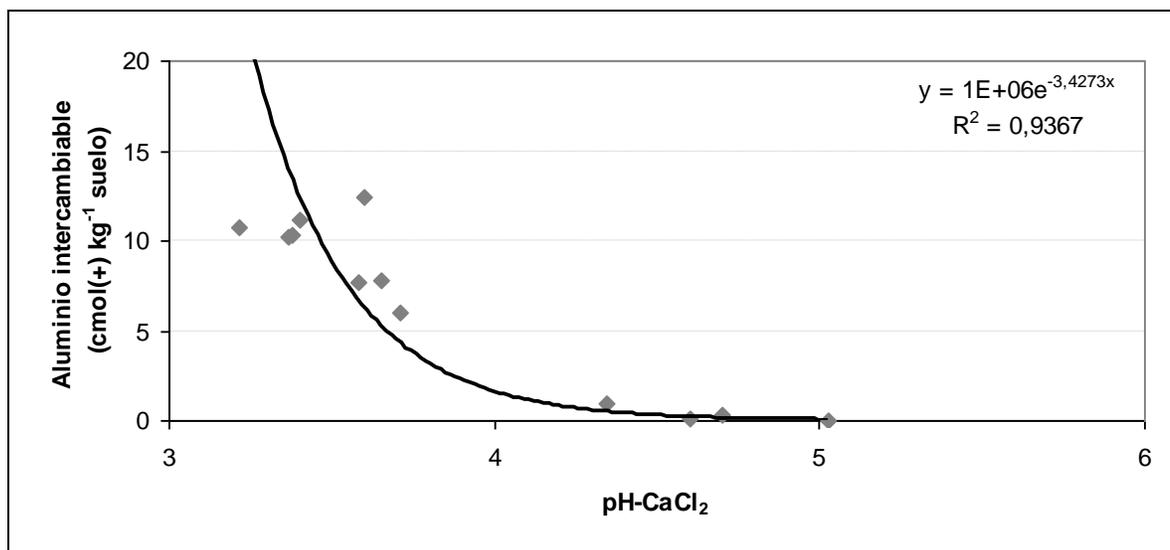


Figura 7: Relación entre concentración de aluminio intercambiable y el pH-CaCl₂ de los suelos en estudio.

El pH-CaCl₂ se correlacionó significativa y positivamente con el pH-H₂O y negativamente con la concentración de aluminio del suelo (Apéndice II).

5.2. Variables de fitotoxicidad

En los bioensayos de germinación con semillas de avena, cebada y lechuga; en cada caso se determinó el porcentaje de germinación relativo (PGR), el crecimiento radical relativo (CRR), el índice de germinación (IG) y la biomasa radical (BR) en base materia seca (MS). Los resultados de cada una de estas variables se detallan a continuación.

5.2.1. Porcentaje de germinación relativo (PGR)

Según se indicó en Materiales y Métodos, el PGR se determinó mediante la expresión [1]. Los resultados por especie son los siguientes:

5.2.1.1. Avena (*Avena sativa* L. cv. Nehuén). Los valores de PGR (Figura 8), mostraron diferencias significativas en cuanto a la distancia a la fundición y en la interacción distancia x profundidad ($p \leq 0,05$). Es posible observar cómo los menores valores de PGR se encuentran en el sitio D3 y cómo en ese sitio tienden a aumentar con la profundidad. Los valores se muestran en el Apéndice IV.

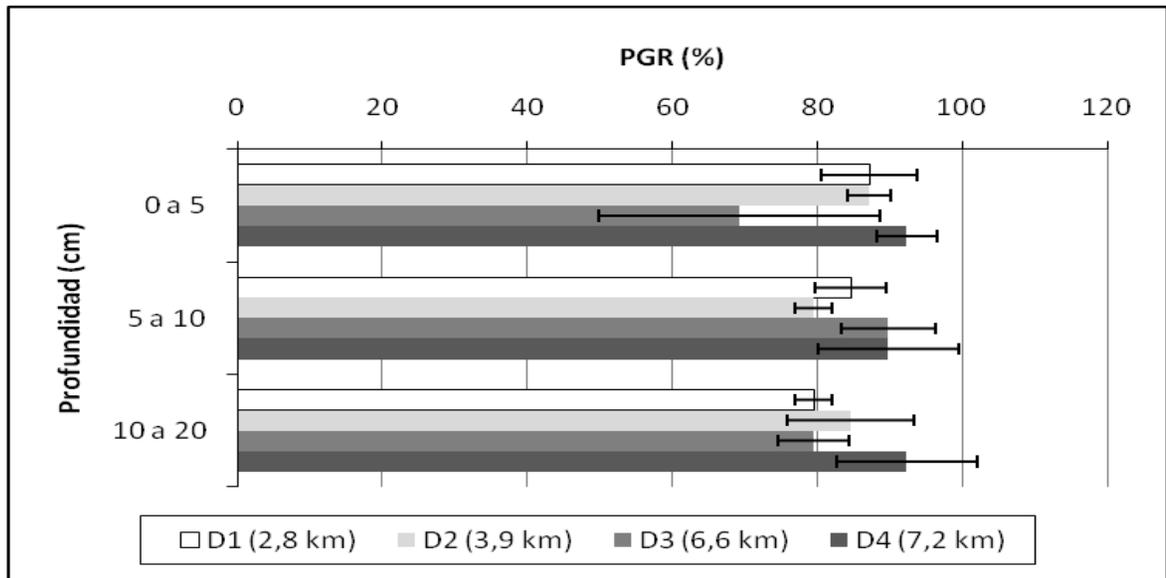


Figura 8: Valores del PGR para avena en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Al relacionar los valores del PGR con las concentraciones de aluminio intercambiable y la concentración molar de H^+ (obtenida a partir del pH-H₂O medido) de los suelos, se encontró que no existe correlación significativa entre las variables, cómo se muestra en el Apéndice V. El mejor ajuste de los datos de PGR con aluminio e hidrógeno se obtuvo con una curva de tendencia logarítmica (Apéndice VI).

5.2.1.2. Cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Libra). En este caso se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en cuanto a la profundidad de muestreo (Figura 9). Se observa una tendencia a alcanzar un mayor PGR con la profundidad de muestreo, lo cual estaría indicando un problema de toxicidad en el estrato más superficial (ver valores en Apéndice IV).

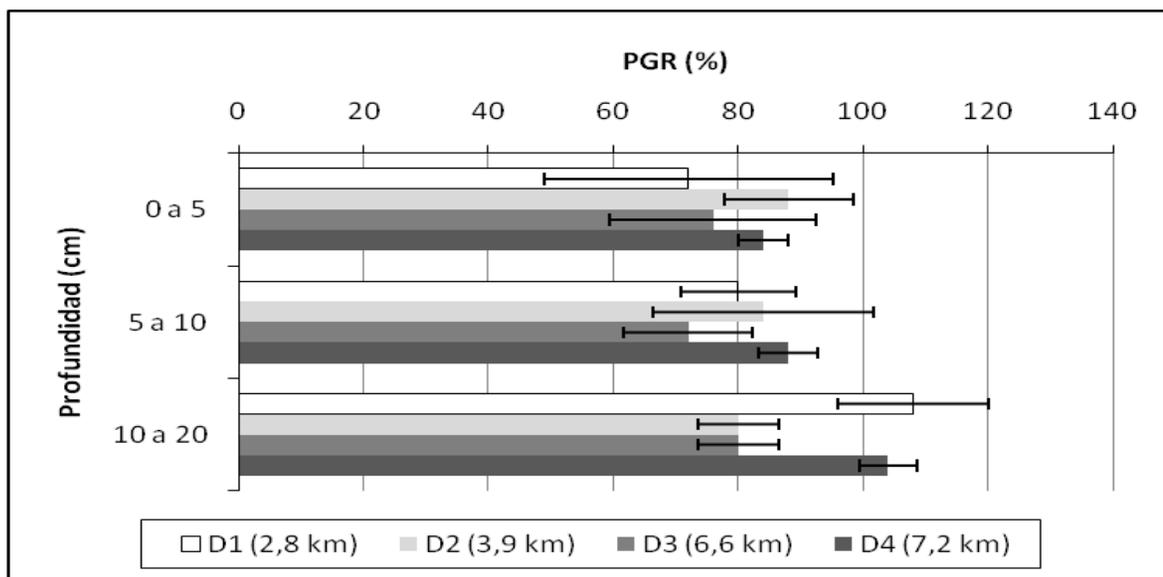


Figura 9: Valores del PGR para cebada en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Al relacionar los valores del PGR con la concentración de aluminio intercambiable y con la concentración de ión hidrógeno (H^+) del suelo, no muestran correlación (ver Apéndice V). La relación entre el PGR con aluminio e hidrógeno se ajusta mejor a una curva de tendencia logarítmica (Apéndice VI).

5.2.1.3. Lechuga (*Lactuca sativa* L. var. capitata cv. Cuatro Estaciones). Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los valores de PGR en cuanto a la distancia a la fundición, cómo se ve en la Figura 10. Se observó que en el sitio más cercano a la fundición (D1) los valores de PGR son significativamente menores, mientras que en el más alejado (D4) los valores PGR son significativamente más altos (Apéndice IV).

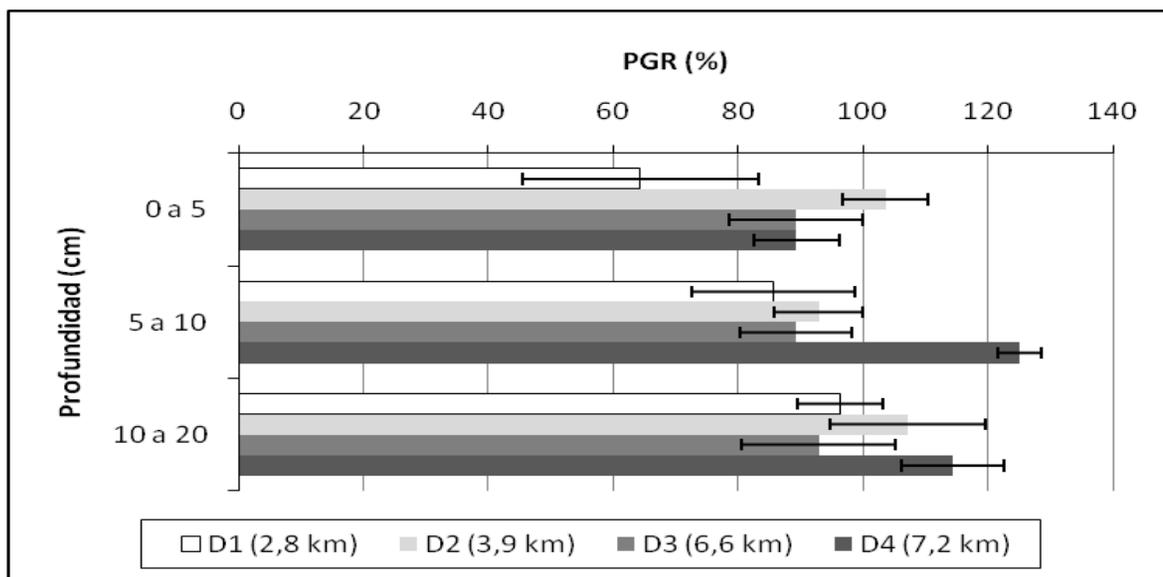


Figura 10: Valores del PGR para lechuga en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Al relacionar los valores de PGR con las concentraciones de aluminio e hidrógeno intercambiables presentes en los suelos, no se observa correlación, como se muestra en el Apéndice V. Al igual que en los casos anteriores, el mejor ajuste se obtuvo con una curva de tendencia logarítmica. (Apéndice VI).

5.2.1.4. Discusión general del PGR. Diversos estudios han demostrado que la respuesta germinativa de las semillas frente al aluminio es variable en especies y cultivares (Roy y Mandal, 2005; Casierra-Posada *et al.*, 2008). Se ha visto por ejemplo, que las semillas de arroz presentan grandes variaciones respecto a la germinación influenciada por la presencia o no de cáscara, presentando diferencias significativas en el porcentaje de germinación sólo en el segundo caso (Wang y Kao, 2005). Lo anterior se puede explicar por la acción de barrera que cumpliría la cáscara a la acción del Al^{3+} sobre el endosperma. En este estudio las semillas de los cereales presentaban cáscara, lo que explicaría porqué se encuentran valores tan altos de PGR (mayores o iguales al 60%) en todas las situaciones (ver valores del PGR en Apéndice IV).

En el caso de la lechuga, el tratamiento de las semillas con Thiram actuaría, en parte, como barrera física a la acción del aluminio. Esto explicaría porqué se obtuvieron altos valores de PGR (Apéndice IV) a pesar de las concentraciones muy altas de aluminio intercambiable del suelo (Cuadro 2). Sin embargo, se observa una tendencia a presentar valores PGR menores a mayores concentraciones de aluminio.

El PGR no se correlacionó con ninguna variable (Apéndice V), lo que demostraría que el efecto fitotóxico del aluminio en suelos ácidos no se observa en la germinación de las semillas que en él se sustentan.

5.2.2. Crecimiento radical relativo (CRR)

Esta variable se determinó a partir de la expresión [2], detallada en la sección de Materiales y Métodos. Los resultados por especie fueron los siguientes:

5.2.2.1. Avena (*Avena sativa* L. cv. Nehuén). Se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los valores CRR tanto con la distancia a la fundición como con la profundidad de muestreo. En la Figura 11, que muestra el comportamiento del CRR, es posible observar cómo el sitio más alejado de la fundición de cobre (distancia D4) presenta valores significativamente mayores que los sitios más cercanos. También es posible observar que el estrato de mayor profundidad (P3) presenta valores de CRR significativamente más altos (ver Apéndice VII)

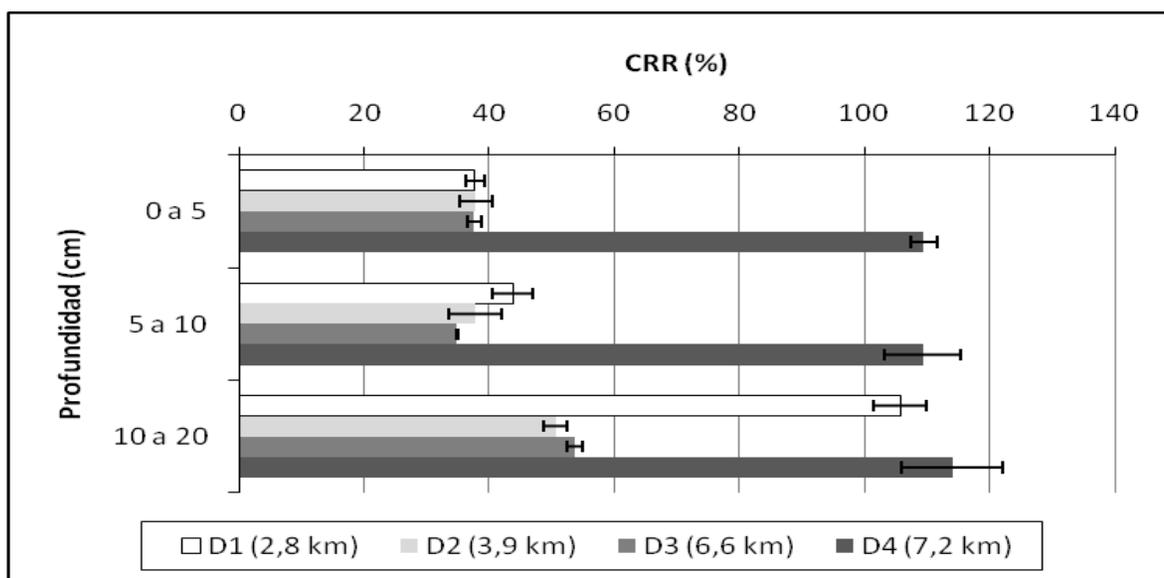


Figura 11: Valores del CRR para avena en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Al relacionar los valores CRR con las concentraciones de aluminio intercambiable del suelo, se obtiene una correlación significativa y negativa (ver Apéndice V). Los resultados se ajustaron mejor a una curva logarítmica, con un $R^2 = 0,88$ (Figura 12).

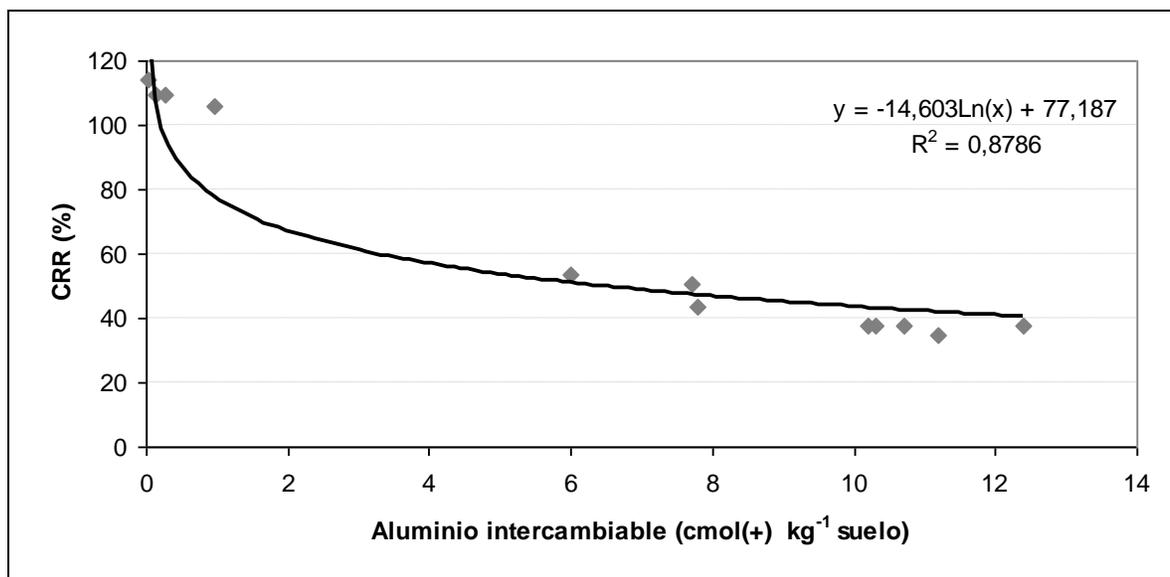


Figura 12: Relación entre CRR para avena y concentración de aluminio intercambiable del suelo.

Lo mismo ocurre al relacionar el CRR con la concentración molar de hidrógeno (Apéndice V). El mejor ajuste también fue con una curva de tendencia logarítmica con un $R^2 = 0,89$ (Figura 13).

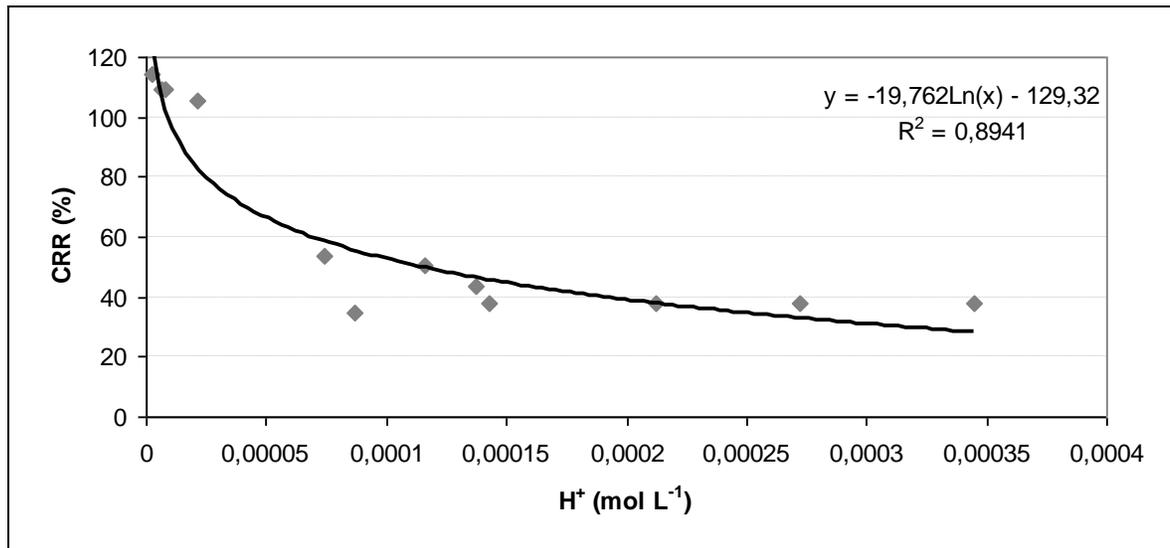


Figura 13: Relación entre CRR para avena y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.

5.2.2.2. Cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Libra). Los valores de CRR muestran diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en cuanto a la distancia a la fuente de emisión de los gases generadores de lluvia ácida y a la profundidad de muestreo. En la Figura 14 se ve

claramente cómo el sitio a mayor distancia de la fundición de cobre (D4) tiene valores significativamente mayores que los sitios a distancias menores. También se ve cómo a mayor profundidad (P3) los valores de CRR son mayores (Apéndice VII)

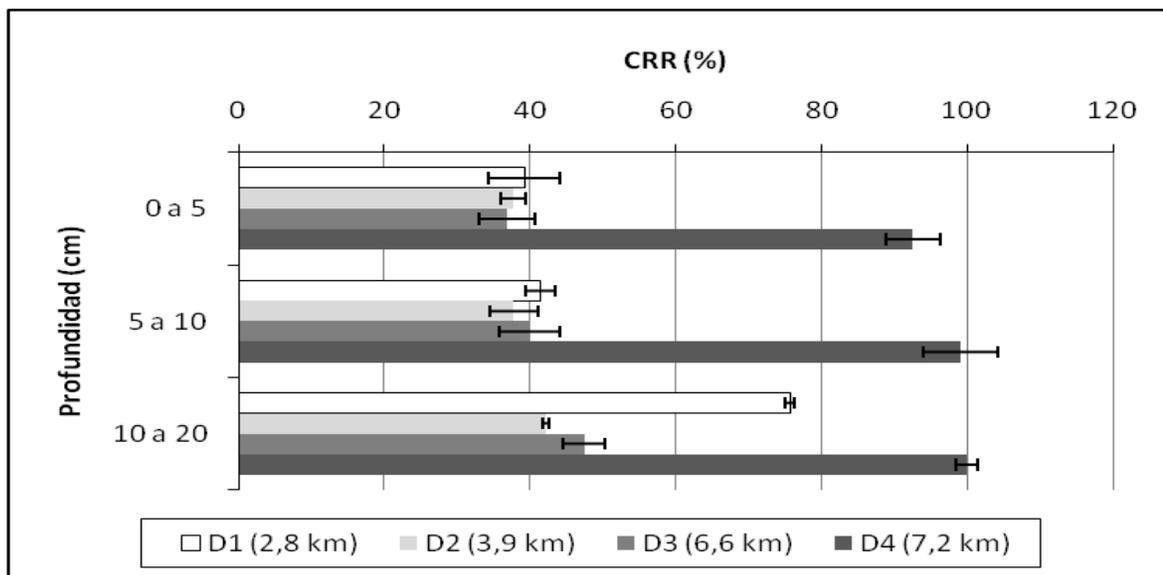


Figura 14: Valores del CRR para cebada en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Al relacionar los valores de CRR con los contenidos de aluminio intercambiable del suelo es posible observar una correlación significativa y negativa (ver Apéndice V), ajustándose los datos a una curva logarítmica con un $R^2 = 0,94$ (Figura 15).

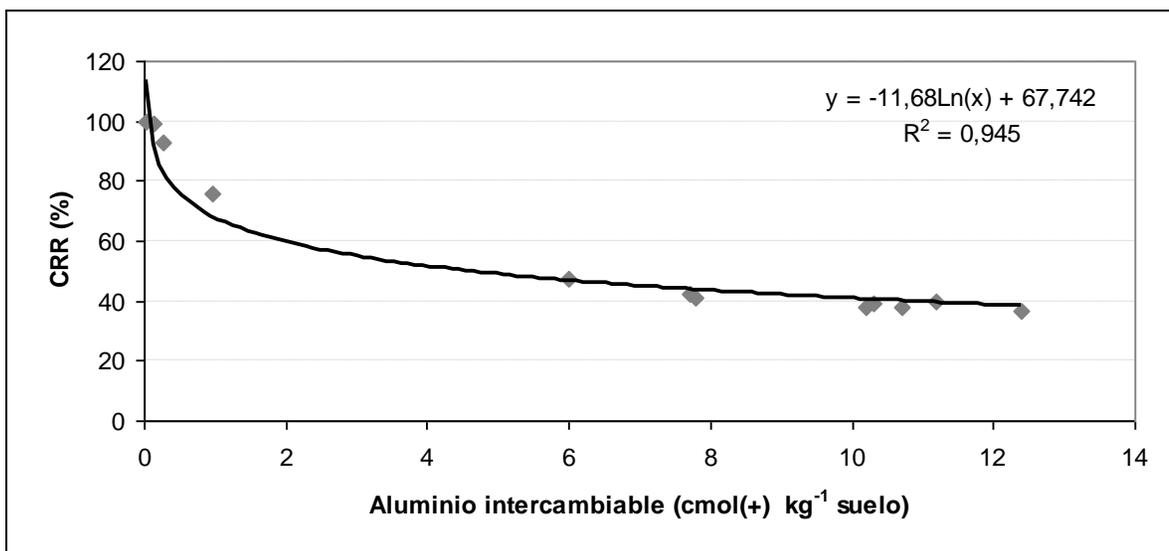


Figura 15: Relación entre CRR para cebada y concentración de aluminio intercambiable del suelo.

Al igual que en el caso anterior, la correlación entre el CRR y la concentración de hidrógeno es significativa y negativa (Apéndice V), ajustándose los datos a una curva de tendencia logarítmica con un $R^2 = 0,94$ (Figura 16)

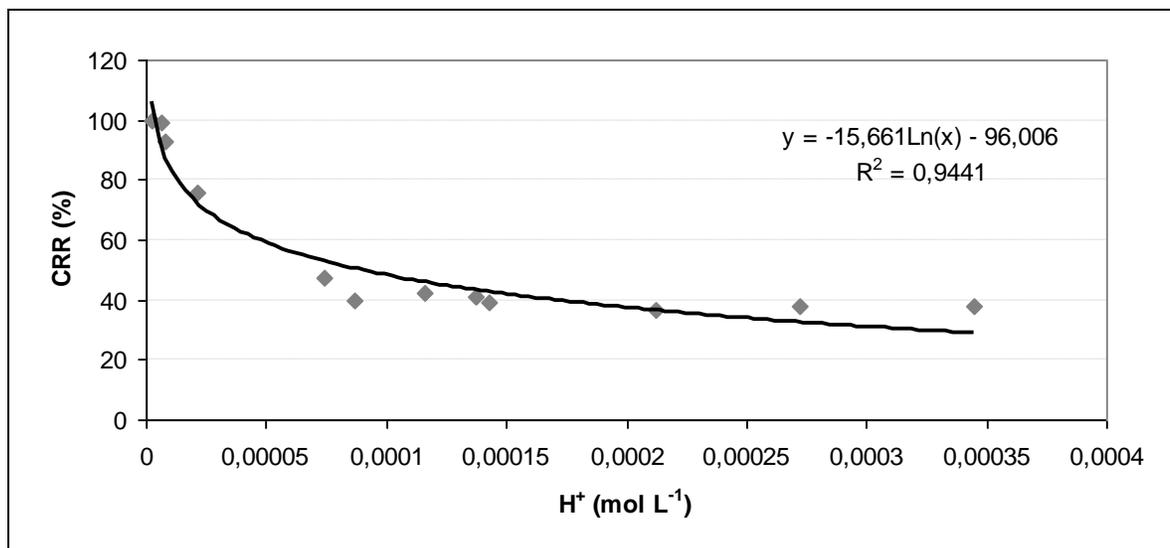


Figura 16: Relación entre CRR para cebada y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.

5.2.2.3. Lechuga (*Lactuca sativa* L. var. capitata cv. Cuatro Estaciones). Se observan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en cuanto a la distancia a la fundición y a la profundidad de muestreo. Al observar la Figura 17 se ve cómo los valores del CRR, en el sitio más alejado de la fundición de Caletones (distancia D4), son significativamente mayores que los de las distancias menores. Se observa además cómo en el estrato más profundo (P3) hay valores significativamente mayores que los de menor profundidad (ver Apéndice VII).

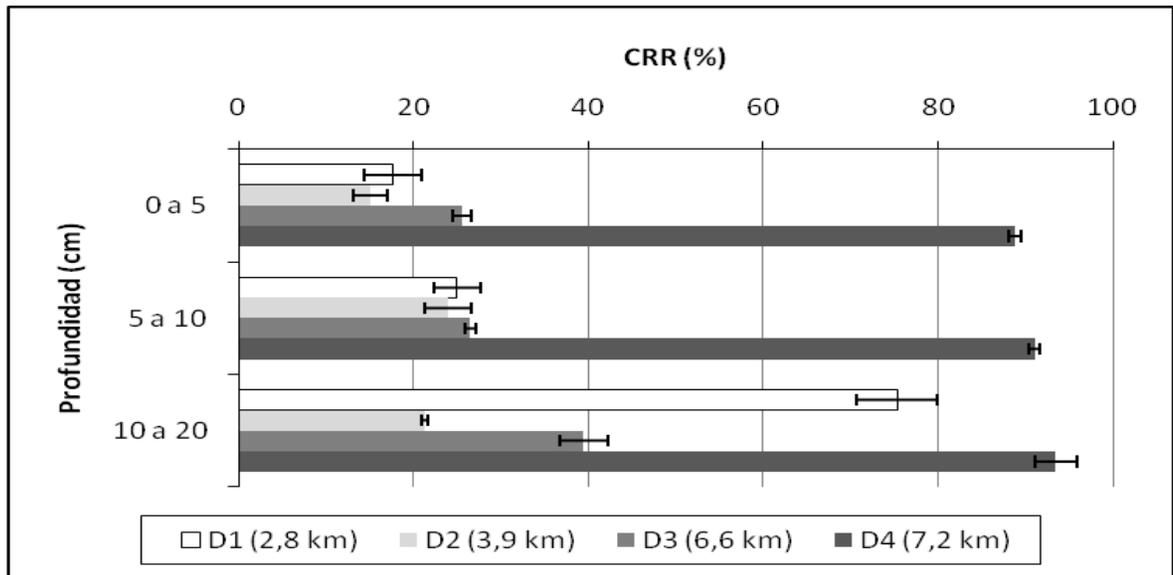


Figura 17: Valores del CRR para lechuga en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Al relacionar los valores CRR con los contenidos de aluminio intercambiable del suelo, se obtiene una correlación significativa y negativa (ver Apéndice V). Los resultados se ajustaron mejor a una curva logarítmica, con un $R^2 = 0,90$ (Figura 18).

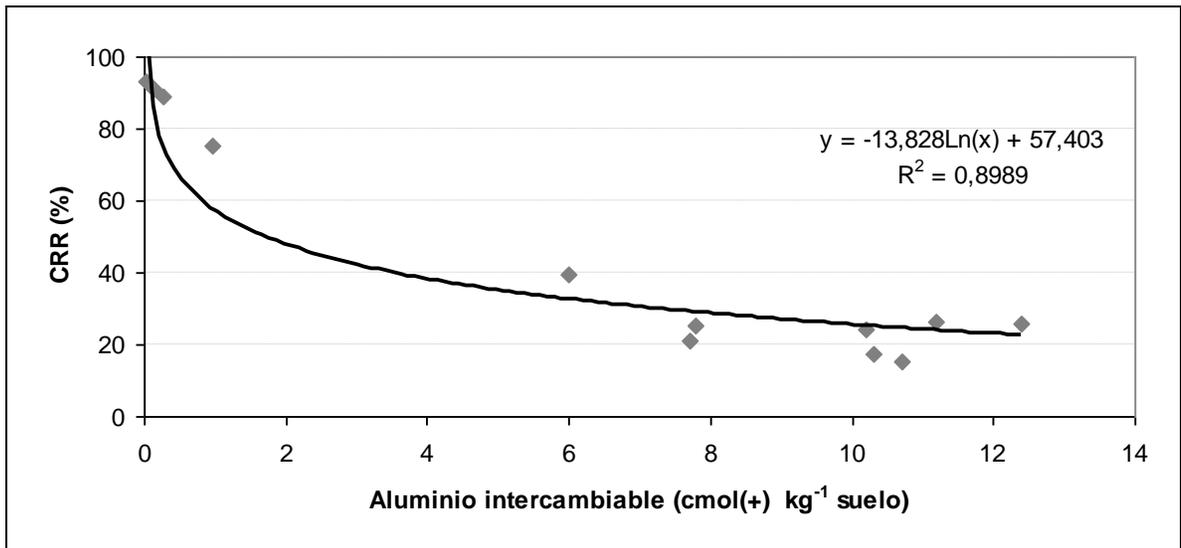


Figura 18: Relación entre CRR para lechuga y concentración de aluminio intercambiable del suelo.

Al igual que en los casos de la avena y la cebada, existe una correlación significativa y negativa entre los valores del CRR de lechuga y la concentración molar de H^+ del suelo (Apéndice V). El mejor ajuste también se obtuvo con una curva de tendencia logarítmica (Figura 19).

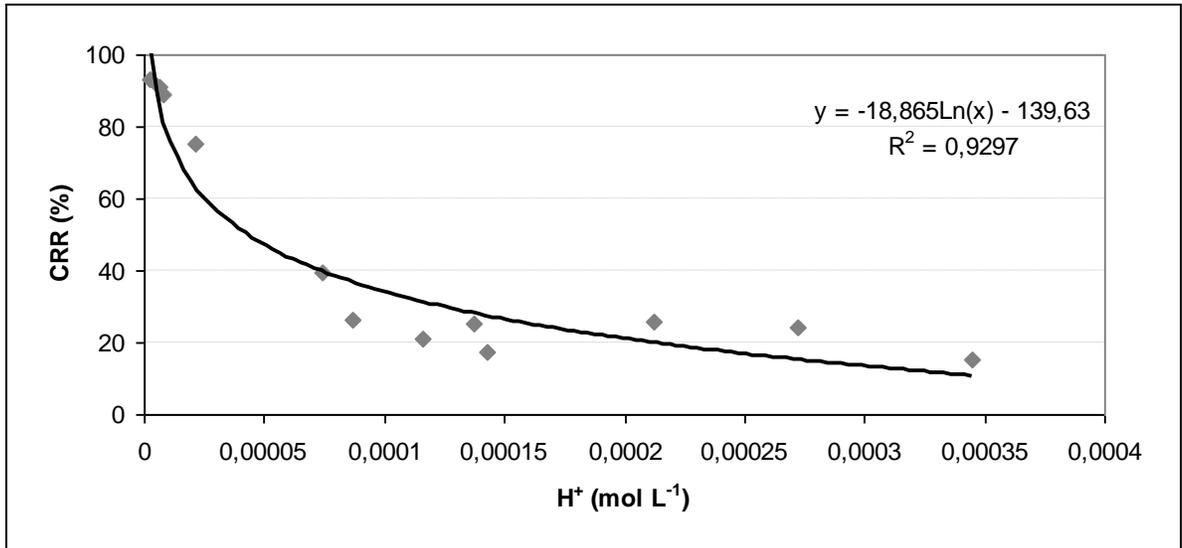


Figura 19: Relación entre CRR para lechuga y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.

5.2.2.4. Discusión general del CRR. Al analizar conjuntamente las tres especies utilizadas, es posible ver que en todas hay una alta correlación negativa entre los valores del CRR y las concentraciones de aluminio intercambiable del suelo. Lo anterior permite determinar que el mayor efecto de la fitotoxicidad por aluminio está presente en el crecimiento radical concordando con resultados similares informados por Delhaize y Ryan (1995). Si bien la cáscara, en el caso de las semillas de los cereales, y el Thiram, en el caso de la lechuga, actuarían como barreras físicas al paso del aluminio, una vez que la semilla germina la radícula se encuentra desprotegida frente a la acción fitotóxica del aluminio intercambiable, por esta razón los efectos de la fitotoxicidad comenzaron a ser visibles luego de la germinación.

Las tres especies muestran diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en cuanto a la distancia a la fundición de cobre y a la profundidad de muestreo. Todas presentan los mayores valores del CRR en el sitio más lejano (distancia D4) y en el estrato más profundo (P3). También es posible notar la interacción entre ambos factores ya que, para una misma distancia, el CRR tiende a aumentar con la profundidad. La razón de este comportamiento estaría dada directamente por la concentración de aluminio intercambiable en el suelo. Al estar prácticamente fuera del radio de depositación ácida, el sector de Los Cóndores (D4), usado como control, presenta valores medios a muy bajos de aluminio intercambiable según la profundidad de muestreo, de acuerdo a los rangos de INIA, CHILE (2011). A diferencia de lo ocurrido en Los Cóndores, los otros tres sectores cercanos a la fundición de cobre presentan valores muy altos de aluminio intercambiable debido al efecto de la depositación ácida. Lemus (2008) mostró que el efecto de la depositación ácida es mayor en superficie, lo que explica porqué en P1 y P2 están los menores valores de pH y las mayores concentraciones de aluminio intercambiable. Lo anterior explica el motivo por el cual las tres especies tienen menores valores de CRR en esas profundidades.

La Figura 20 muestra los valores del CRR para las tres especies utilizadas para evaluar la fitotoxicidad de aluminio. Las respuestas son diferentes ya que la sensibilidad a los niveles de aluminio en el suelo, según Havlin *et al.* (2005), depende de la especie y el cultivar. Se ha visto que hay especies vegetales que resisten más que otras al aluminio intercambiable, por ejemplo Garzón (2003) observó cómo el maíz (*Zea mays* L.) presenta menor sintomatología a fitotoxicidad por aluminio que el frejol (*Phaseolus vulgaris* L.); y Pinochet *et al.* (2003) observaron cómo en praderas naturalizadas de la zona sur de Chile la especie pasto quila (*Agrostis capillaris* L.) es más tolerante al aluminio que la ballica inglesa (*Lolium perenne* L.) y que el bromo (*Bromus valdivianus* Phil). Por otra parte, Rodríguez *et al.* (1986) observaron que para el sorgo existen cultivares que resisten mejor al aluminio. Estudios similares se han realizado en trigo (Jungjohann *et al.*, 1997), en maíz (Giaveno y Miranda, 2000; Feixa, 2001), en arroz (Costa de Macêdo *et al.*, 2001) y en lupino (Peñaloza *et al.*, 2004) por nombrar a algunos. En los casos anteriores el objetivo principal era determinar qué especies o cultivares son más resistentes a la toxicidad por aluminio ya que éste es el mayor problema que afecta a la agricultura en las regiones subtropicales (Kochian, 1995).

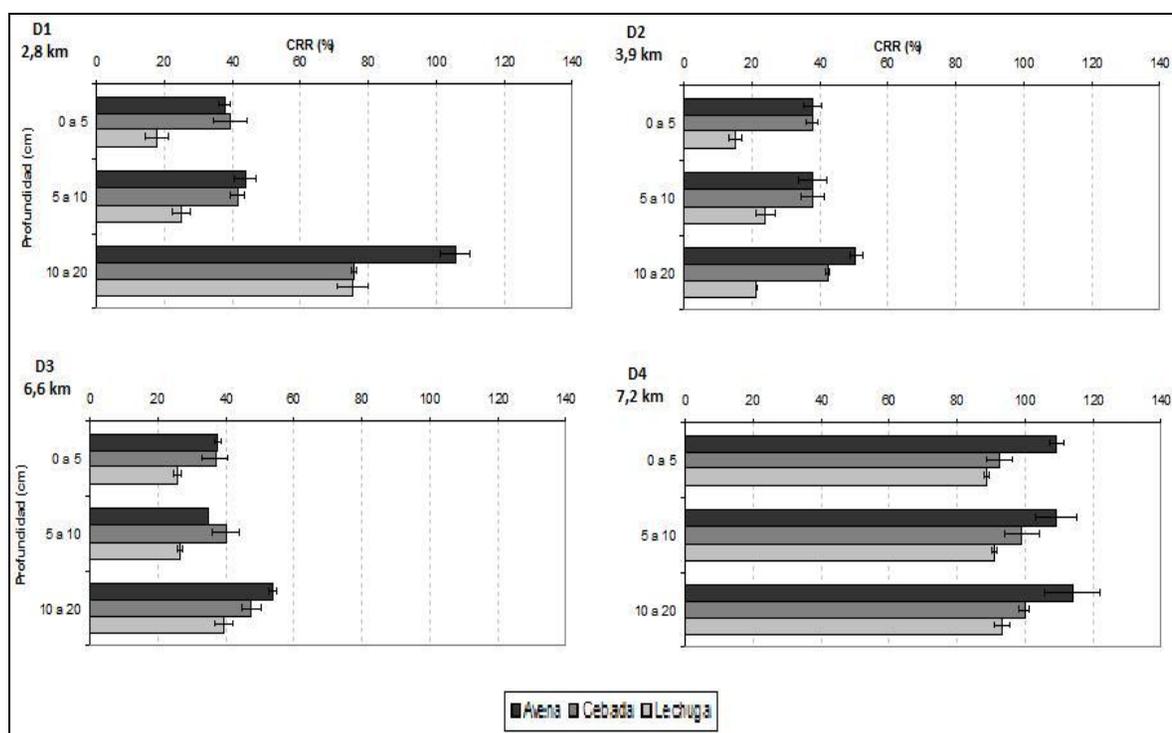


Figura 20: Valores del CRR para avena, cebada y lechuga en las doce situaciones estudiadas en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

En la Figura 20 se puede observar que, en general, para una misma situación o concentración de aluminio intercambiable en el suelo los valores del CRR de lechuga son los menores, los de cebada son intermedios y los de avena son los mayores. Además, en todas las situaciones se observa un comportamiento similar y una alta correlación con los

niveles de aluminio intercambiable del suelo. Lo anterior permite determinar que de las tres especies utilizadas, la lechuga es la más susceptible a la fitotoxicidad por aluminio y la avena la más resistente. Esto concuerda con lo explicitado en la descripción de las especies, en donde se mostró que la lechuga es, de las tres especies utilizadas en este estudio, la que menos se adapta a suelos ácidos; y con los resultados de Borie *et al.* (1994), en los que se vio que la avena es más tolerante al aluminio que la cebada en iguales condiciones.

Diversos estudios han demostrado que en los cereales la tolerancia al aluminio está codificada en un grupo conocido de genes (Tang *et al.*, 2000; Kikui *et al.*, 2005). En el Anexo IV se muestra cómo sería el mecanismo de tolerancia al aluminio por parte de la avena y la cebada. Este mecanismo consiste en la exudación de ácidos orgánicos desde la raíz, los cuales al quelar al Al^{3+} impiden su absorción, lo cual permite explicar porqué a igual concentración de aluminio estas dos especies tienen valores CRR superiores a los de la lechuga.

El CRR se correlacionó significativa y positivamente con el pH (H_2O y CaCl_2); y significativa y negativamente con las concentraciones de aluminio e hidrógeno (Apéndice V).

5.2.3. Sintomatología visual

Es muy difícil discriminar entre toxicidad por aluminio e hidrógeno en suelos ácidos, por lo que generalmente se estudia el efecto fitotóxico de cada uno en soluciones nutritivas controladas (Borie *et al.*, 1992), determinando así la sintomatología que cada uno de estos elementos provoca en las plantas. Aún cuando el CRR se correlacionó significativa y negativamente con la concentración de hidrógeno, sólo se hicieron observaciones de la sintomatología visual de la fitotoxicidad por aluminio en las raíces. Las tres especies mostraron los síntomas característicos (figuras 21, 22 y 23). En las tres figuras las plántulas se desarrollaron en diferentes situaciones con las siguientes concentraciones de aluminio intercambiable: S3 ($0,96 \text{ cmol}(+) \text{ kg}^{-1}$), S4 ($10,7 \text{ cmol}(+) \text{ kg}^{-1}$), S7 ($12,4 \text{ cmol}(+) \text{ kg}^{-1}$) y S8 ($11,2 \text{ cmol}(+) \text{ kg}^{-1}$). Es posible observar cómo, además de la disminución en el crecimiento radical que es el síntoma más característico (Delhaize y Ryan, 1995; Barceló y Poschenrieder, 2002), la arquitectura radical se ha visto afectada por la alta concentración de aluminio intercambiable concordando con los resultados de Clarkson (1969; citado por Poschnreider *et al.*, 2008) y cómo el sistema radical presenta un tono pardo, con raíces cortas y engrosadas (Alam *et al.*, 1979; citado por Feixa, 2001). En las figuras 21, 22 y 23 se ha marcado algunos sectores donde es más notorio el pardeamiento del sistema radicular.

Es importante mencionar que el efecto tóxico por parte de los iones H^+ en las plantas se debe a la acidificación del citoplasma, como consecuencia de un cambio en el potencial eléctrico de la membrana plasmática (Bertl y Felle, 1985; citado por Borie *et al.*, 1992), lo cual afecta la actividad ATP-asa (Schubert *et al.*, 1990; citado por Borie *et al.*, 1992).

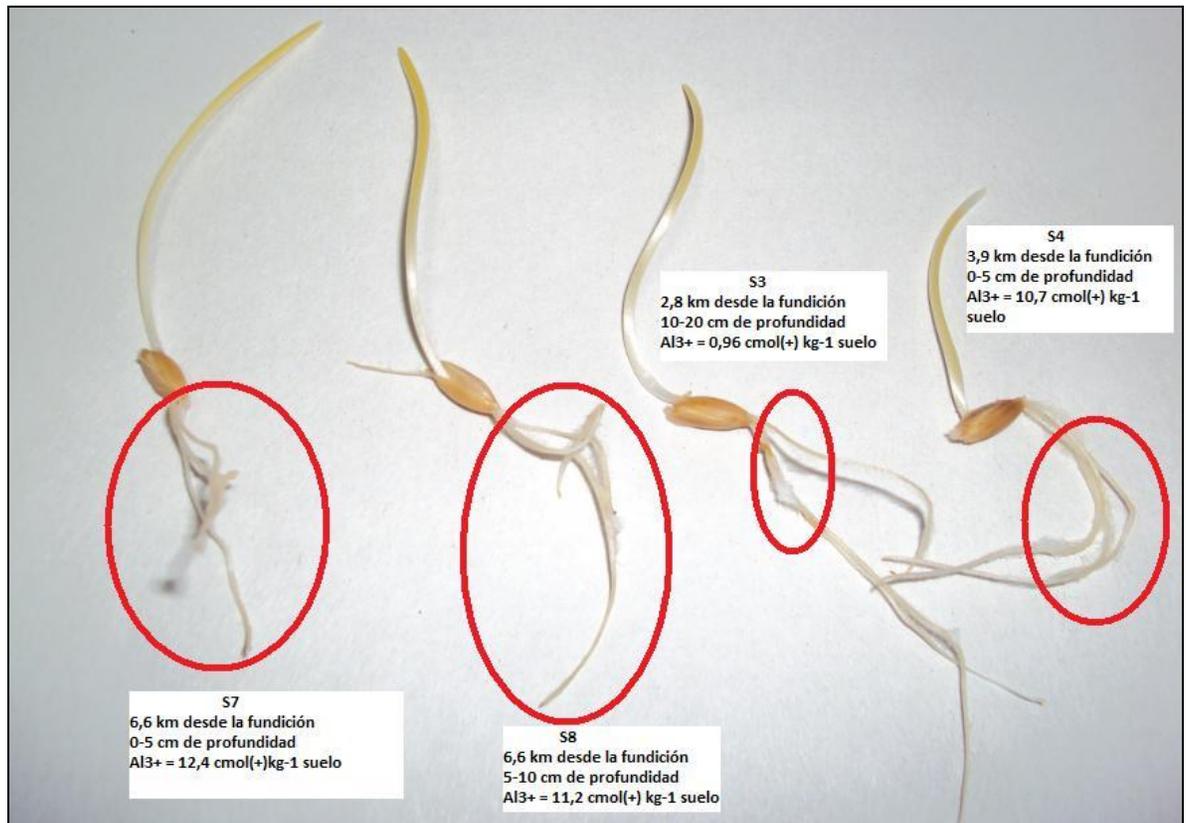


Figura 21: Sintomatología visual de la fitotoxicidad por aluminio en avena. Nótese la disminución en el crecimiento radical en las plántulas a mayor concentración de aluminio en el medio. Nótese además en las zonas marcadas el engrosamiento y la tonalidad parda de la raíz; y cómo esta sintomatología es mayor a mayores concentraciones de Al³⁺ en el suelo.

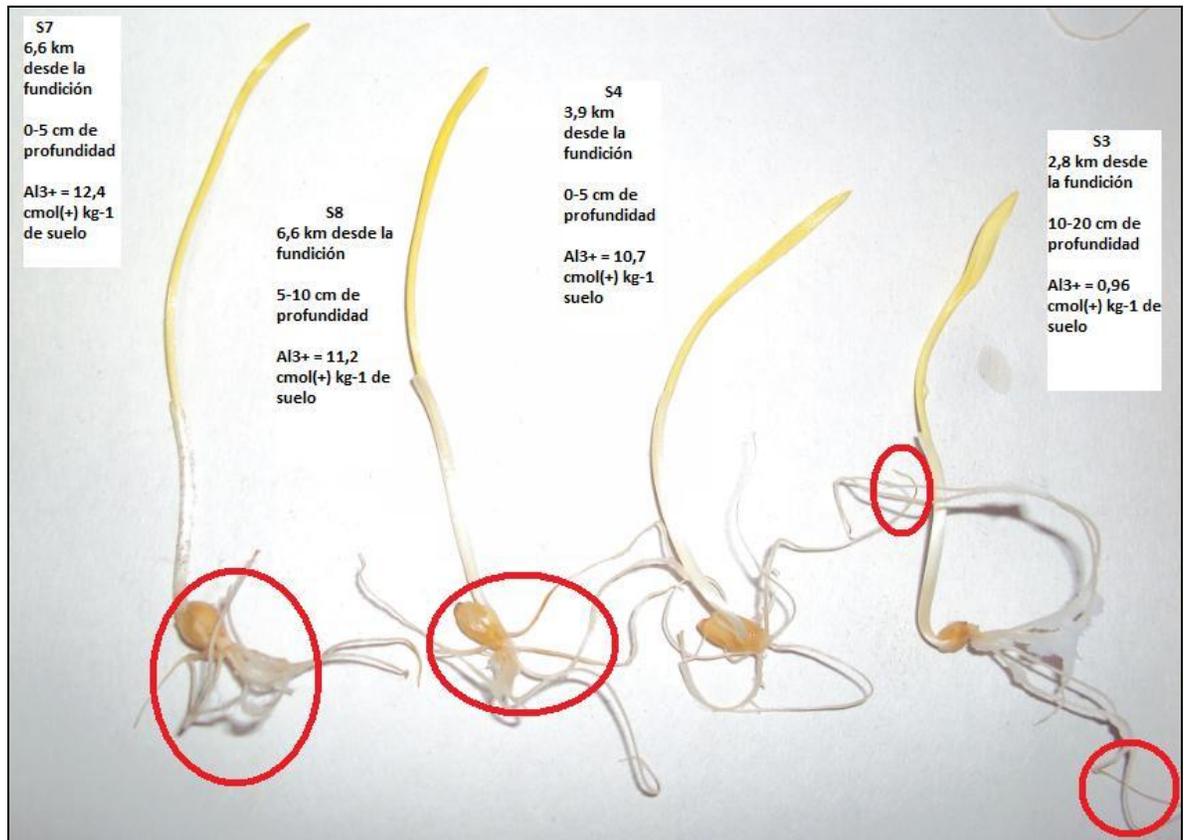


Figura 22: Sintomatología visual de la fitotoxicidad por aluminio en cebada. Nótese la disminución en el crecimiento radical en las plántulas a mayor concentración de aluminio en el medio. Nótese además en las zonas marcadas el engrosamiento y la tonalidad parda de la raíz; y cómo esta sintomatología es mayor a mayores concentraciones de Al^{3+} en el suelo.

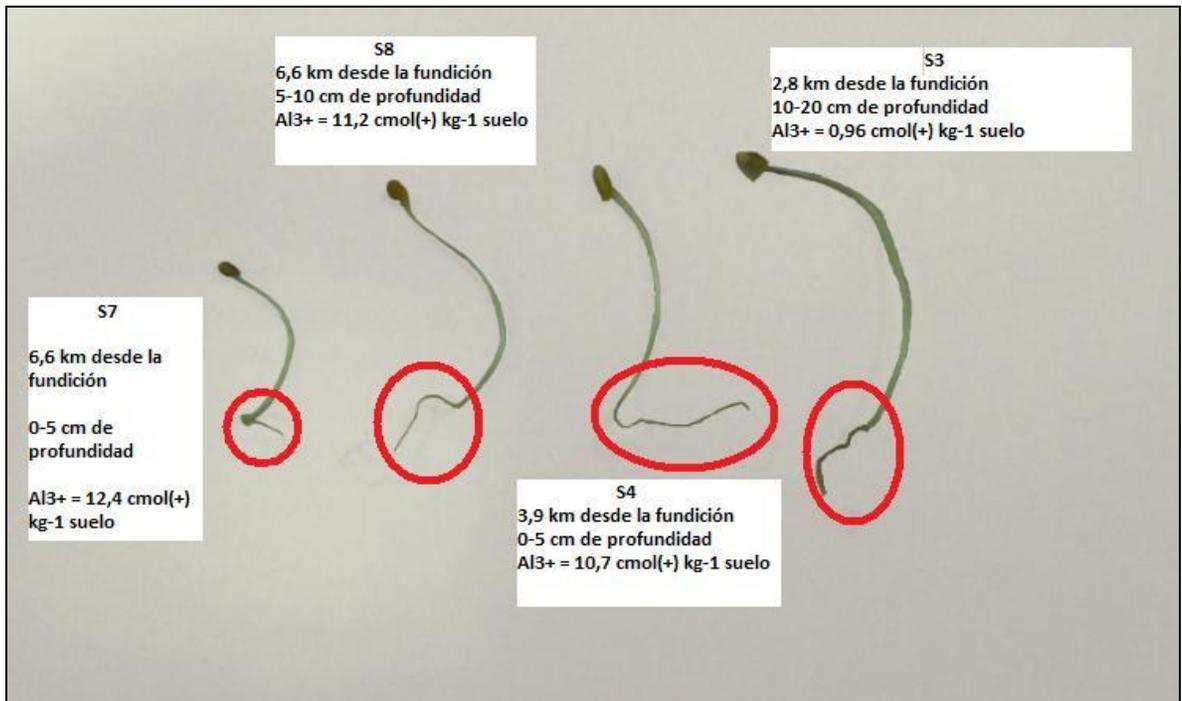


Figura 23: Sintomatología visual de la fitotoxicidad por aluminio en lechuga. Nótese la disminución en el crecimiento radical en las plántulas a mayor concentración de aluminio en el medio. Nótese además en las zonas marcadas la tonalidad parda de la raíz; y cómo esta sintomatología es mayor a mayores concentraciones de Al^{3+} en el suelo

Es sabido que el aluminio afecta principalmente a las plantas mediante la inhibición en el crecimiento de las raíces, en la elongación radical y en la cantidad y longitud de las raíces laterales, altamente absorbentes (Delhaize y Ryan, 1995; Barceló y Poschenrieder, 2002), lo que coincide con una disminución de la división celular (Frantzios *et al.*, 2001).

Ma *et al.* (2002) lograron demostrar que los síntomas pueden aparecer después de unos pocos minutos u horas desde que las plantas son expuestas a soluciones con concentraciones micromolares de aluminio. Debido a la rapidez con la que el aluminio comienza a disminuir el crecimiento radical se cree que el apoplasto es el primer punto de ataque de este metal. Hay teorías de que el aluminio se acumula tanto en la pared celular como en la membrana plasmática, esto debido a la rapidez de acción como a la hipótesis de que el metal penetra muy lentamente en la célula (Garzón, 2003).

El engrosamiento de la raíz se debería, principalmente, a una acumulación de aluminio en la pared celular, lo que se traduce en un engrosamiento de ésta, aunque como se dijo anteriormente, en la membrana plasmática también habría acumulación de aluminio. Del total del aluminio en la raíz un 95% se encuentra en la pared celular (Rengel, 1996). En la pared celular, el aluminio competiría con el calcio, desplazando a estos iones de manera rápida e irreversible.

5.2.4. Índice de germinación (IG)

El IG fue determinado a partir del PGR y CRR según la expresión [3], detallada en Materiales y Métodos. Dependiendo del valor del IG del bio-indicador Zucconi *et al.* (1981) definen tres niveles de fitotoxicidad: alta ($IG \leq 50\%$); moderada ($50\% < IG \leq 80\%$); y baja ($80\% < IG < 100\%$).

Los resultados por especie utilizada en esta investigación son los siguientes:

5.2.4.1. Avena (*Avena sativa* L. cv. Nehuén). Se observan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los valores, tanto para la distancia a la fundición de Caletones como para la profundidad de muestreo. Los valores del IG se graficaron en la Figura 24 y se muestran el Apéndice VIII. Es posible observar que los valores más bajos del IG se dan en los sitios más cercanos a la fundición de cobre (D1, D2 y D3). Se observa también que los mayores valores del IG para una misma distancia se encuentran a la mayor profundidad (P3).

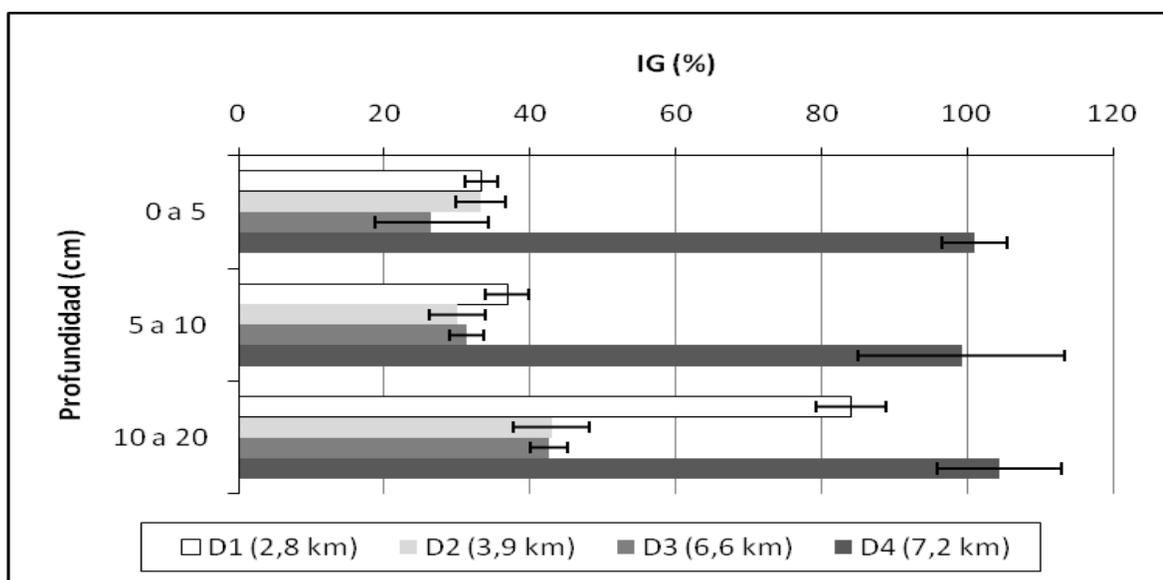


Figura 24: Valores del IG para avena en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Se observan valores del IG menores del 50% a las distancias D1, D2 y D3, lo cual según Zucconi *et al.* (1981) significa que en estos sitios hay una alta fitotoxicidad, excepto en D1 x P3 (situación 3), el cual presenta un IG de 84,06 %. Esto se explica porque la situación 3 presenta una concentración de aluminio intercambiable de $0,96 \text{ cmol}(+) \text{ kg}^{-1}$ suelo, valor significativamente menor al del resto de los suelos a las distancias más próximas, cuyos valores oscilan entre 7,8 y $12,4 \text{ cmol}(+) \text{ kg}^{-1}$ suelo (Cuadro 2).

Al relacionar los valores del IG con los niveles de aluminio intercambiable en los suelos se observa una correlación significativa y negativa (ver Apéndice V), siendo el mejor ajuste

de los datos una curva de tendencia logarítmica, con un $R^2 = 0,92$, cómo lo muestra la Figura 25.

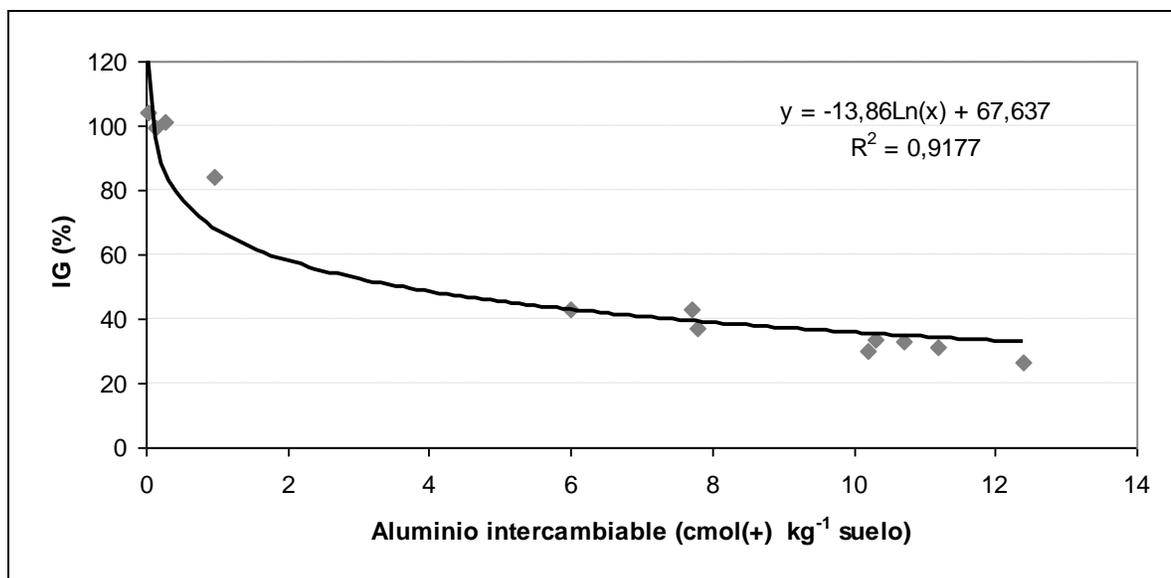


Figura 25: Relación entre el IG para avena y la concentración de aluminio intercambiable del suelo.

La correlación entre el IG y la concentración de H^+ del suelo también es significativa y negativa (Apéndice V). La Figura 26 muestra la relación, siendo el mejor ajuste una línea de tendencia logarítmica con un $R^2 = 0,93$.

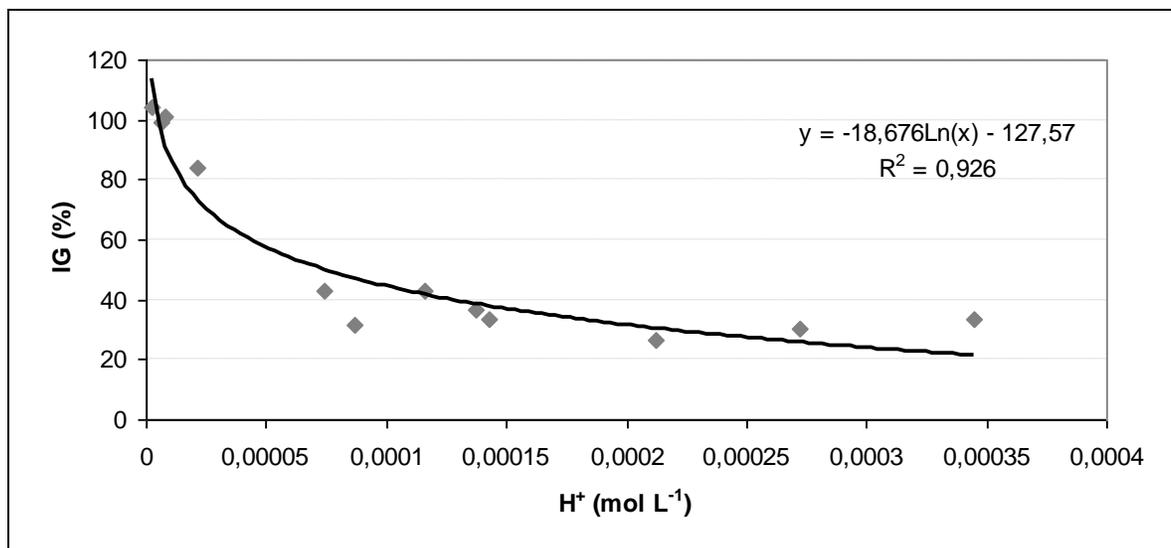


Figura 26: Relación entre el IG para avena y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.

5.2.4.2. Cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. Libra). Los valores del IG para cebada presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en relación a la distancia a la fundición y a la profundidad de muestreo. Al observar la Figura 27, se ve claramente que en los sitios D1, D2 y D3, excepto D1 x P3 (situación 3) presentan valores del IG significativamente menores que el sitio D4.

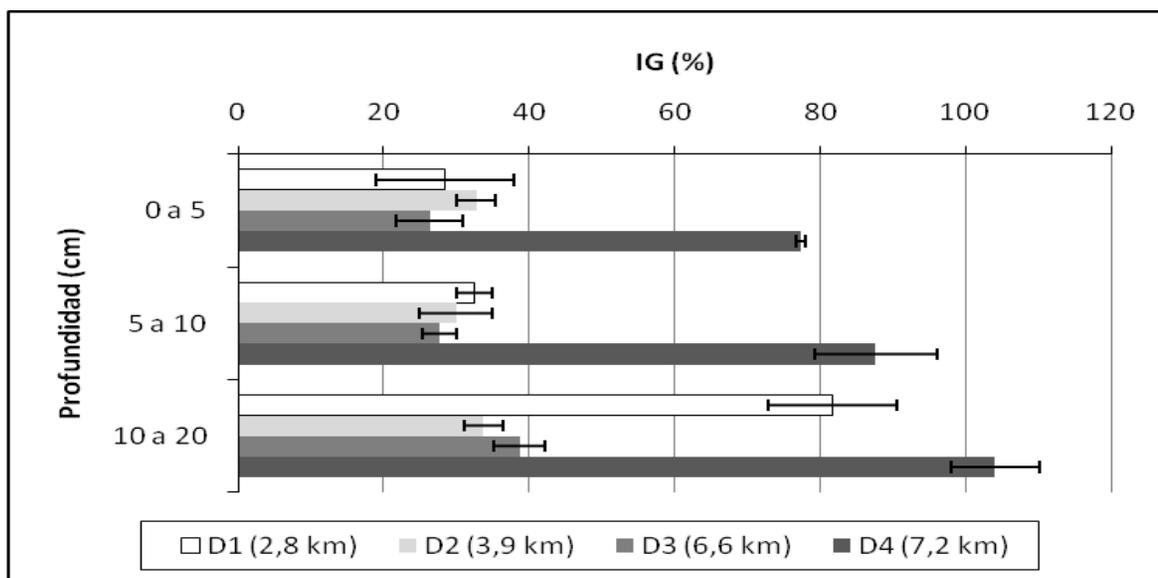


Figura 27: Valores del IG para cebada en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Al igual que en el caso de la avena, se observa que los valores del IG para D1, D2 y D3 indican una alta fitotoxicidad en estos suelos ($IG < 50\%$), cómo se ve en el Apéndice VIII, excepto D1 x P3 (situación 3) que presenta una concentración de aluminio intercambiable aproximadamente 10 veces menor (Cuadro 2).

Para la cebada también la correlación entre los valores del IG y las concentraciones de aluminio intercambiable e hidrógeno del suelo es significativa y negativa (ver Apéndice V). En este caso la relación de los datos también se ajusta mejor a una curva de tendencia logarítmica, cómo se ve en las figuras 28 y 29.

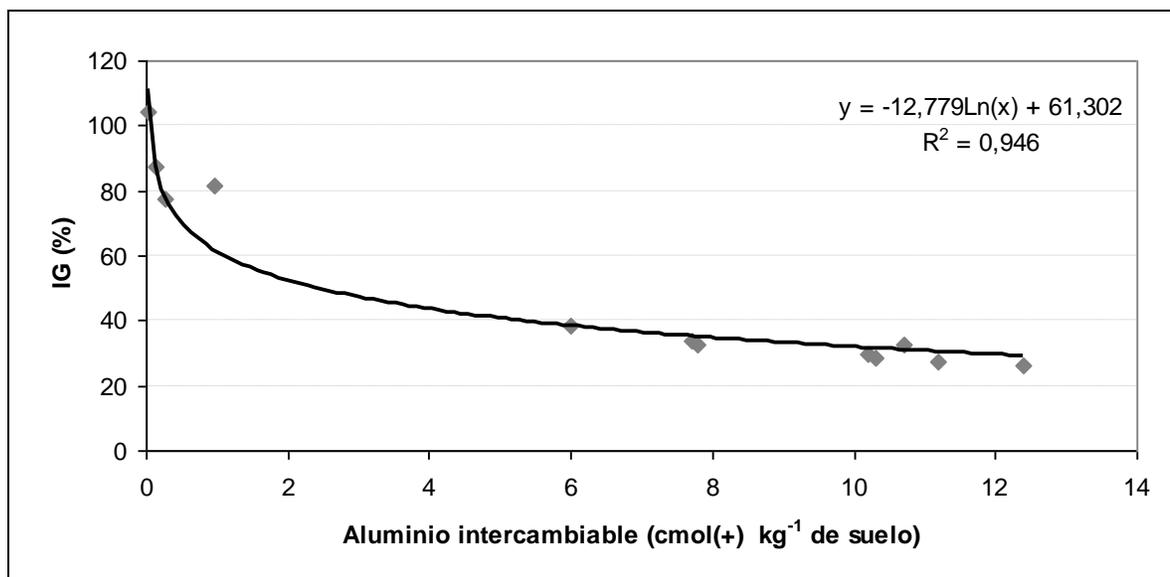


Figura 28: Relación entre el IG para cebada y la concentración de aluminio intercambiable del suelo.

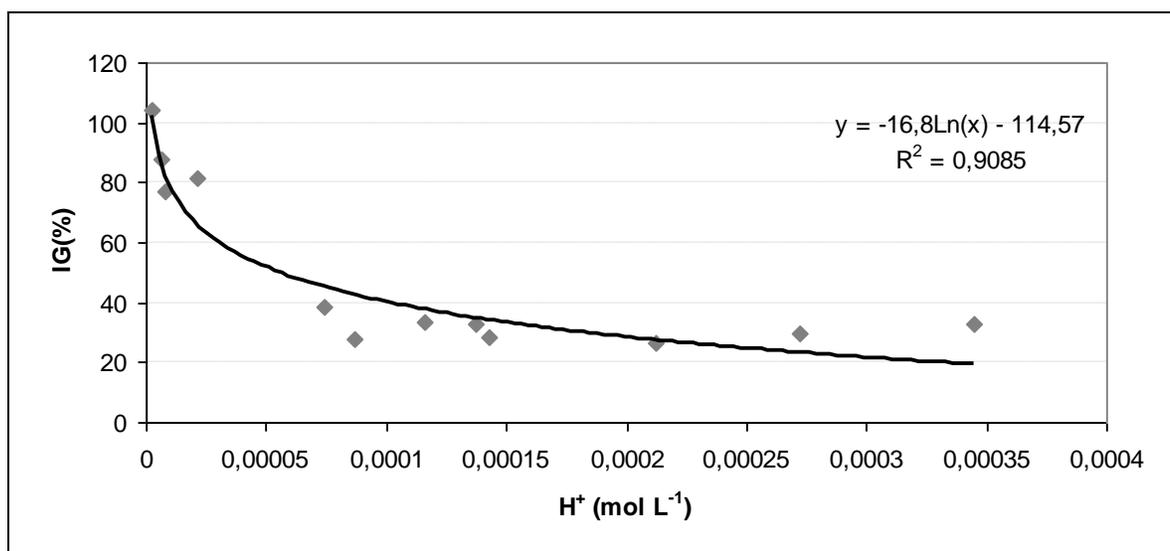


Figura 29: Relación entre el IG para cebada y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.

5.2.4.3. Lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *capitata* cv. Cuatro Estaciones). Los valores del IG presentan diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en cuanto a la distancia a la fundición de Caletones y a la profundidad de muestreo. En la Figura 30 se observa que los valores del IG a las tres distancias menores a la fundición (D1, D2 y D3) presentan valores significativamente menores a D4, excepto D1 x P3 (situación 3), situación que también se dio y se explicó para la avena y la cebada (valores en Apéndice VIII).

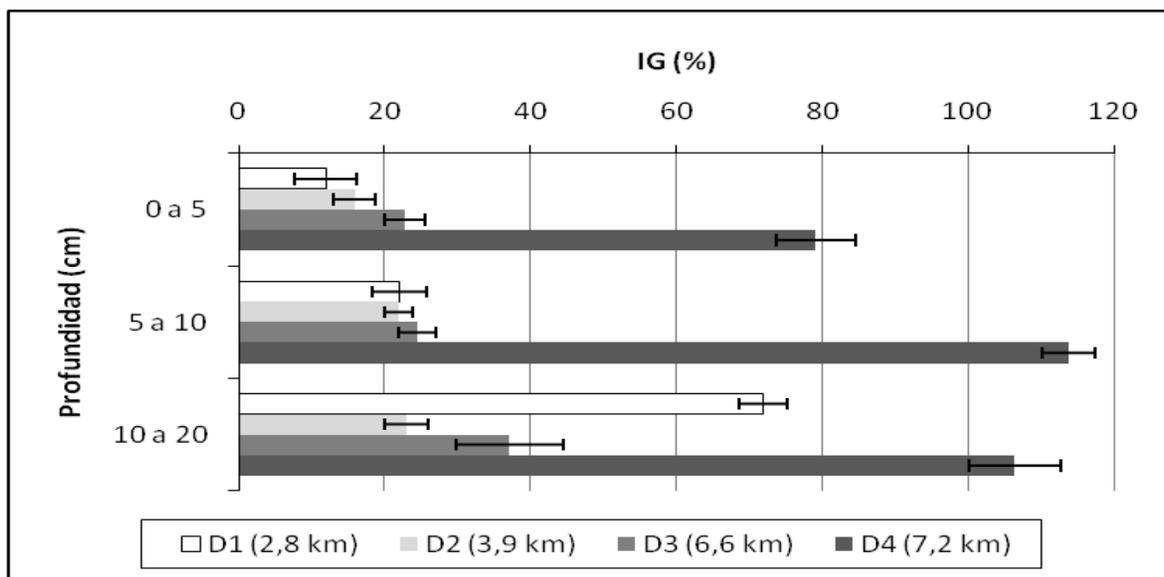


Figura 30: Valores del IG para lechuga en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Los valores del IG para D1, D2 y D3, al igual que en los dos casos anteriores, son menores del 50 %, por lo que a las distancias cercanas a la fundición de cobre de Caletones hay una alta fitotoxicidad. Al relacionar los valores del IG con las concentraciones de aluminio intercambiable del suelo se observa una correlación significativa y negativa (ver Apéndice V) y el mejor ajuste de los datos, al igual que en avena y cebada, se obtuvo con una curva de tendencia logarítmica cómo lo muestra la Figura 31.

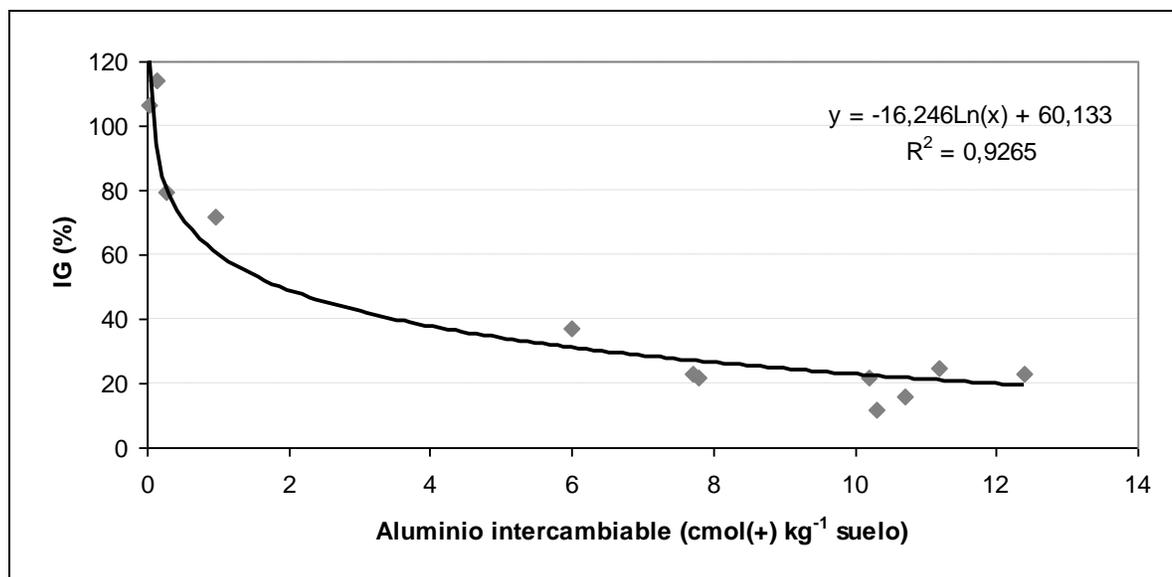


Figura 31: Relación entre IG para lechuga y concentración de aluminio intercambiable del suelo.

La correlación entre el IG y la concentración molar de H^+ también es significativa y negativa (ver Apéndice V). Los datos, al igual que en los casos anteriores, se ajustaron mejor a una curva de tendencia logarítmica (Figura 32).

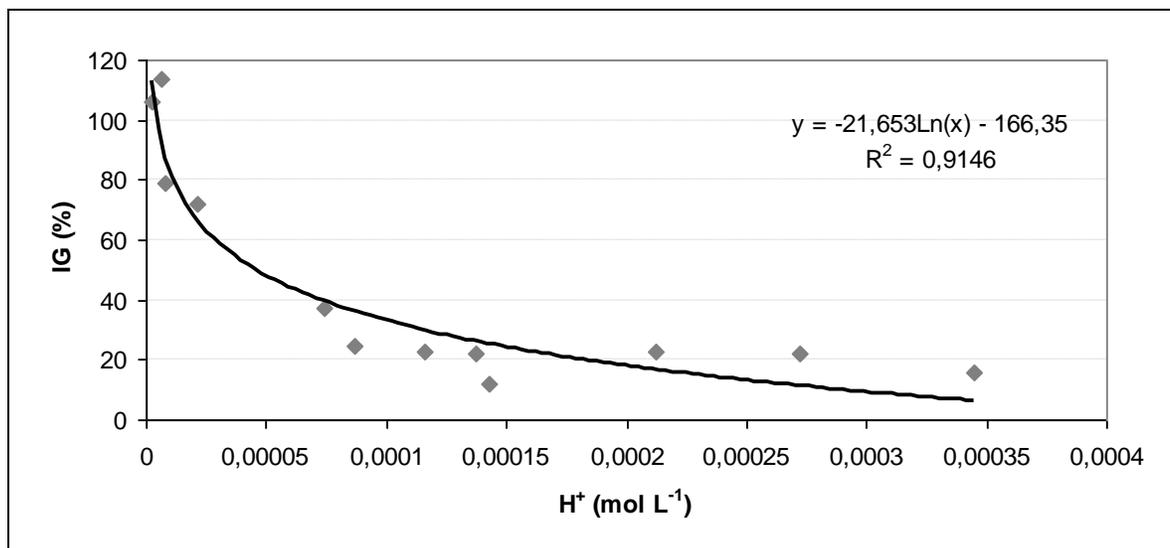


Figura 32: Relación entre el IG para lechuga y la concentración molar de ión hidrógeno en el suelo.

5.2.4.4. Discusión general del IG. Al analizar conjuntamente los resultados para las tres especies, se observa que todas tienen un comportamiento similar al dar diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en cuanto a distancia a la fundición y profundidad de muestreo. Las tres especies muestran valores del IG significativamente mayores en el sitio más distante (D4) y mayor profundidad de muestreo (P3), y muestran una tendencia a presentar mayores valores del IG a medida que la profundidad aumenta para una misma distancia. Los resultados tienen relación con las concentraciones de aluminio del suelo las que, como ya se ha explicado, tienden a ser mayores en los sitios más cercanos a la fundición, son altas en los estratos superficiales y disminuyen en profundidad; todo esto debido a la dinámica de la depositación ácida.

La Figura 33 muestra los valores del IG para las tres especies utilizadas en el desarrollo del estudio.

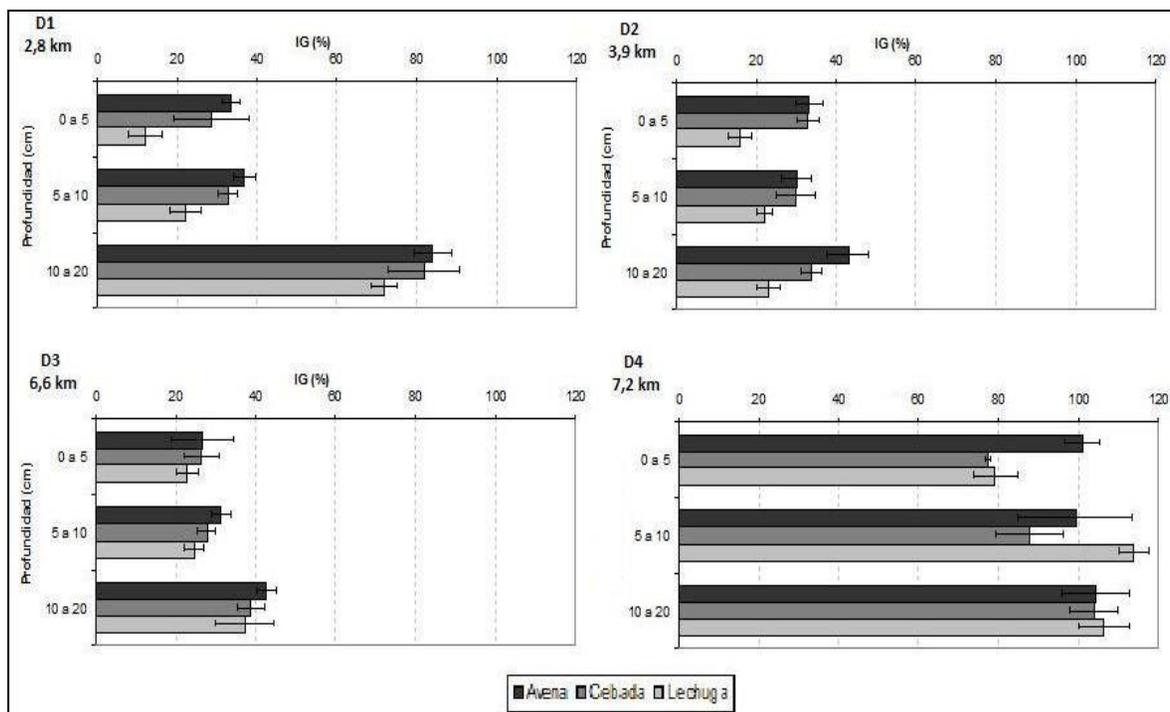


Figura 33: Valores del IG para avena, cebada y lechuga para las doce situaciones estudiadas en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Utilizando el criterio de Zuconni *et al.* (1981), es posible afirmar que ocho de las doce muestras de los suelos estudiados presentan una alta fitotoxicidad por aluminio. Las situaciones: 1 (D1 x P1), 2 (D1 x P2), 4 (D2 x P1), 5 (D2 x P2), 6 (D2 x P3), 7 (D3 x P1), 8 (D3 x P2) y 9 (D3 x P3), presentan valores del IG inferiores al 50 %, lo que demuestra que las altas concentraciones de aluminio en el suelo afectan el normal desarrollo de la vida vegetal.

Estudios realizados por Zuconni *et al.* (1981), Tiquia *et al.* (1996) y Martínez (2008) con sustratos orgánicos demostraron que el IG es el mejor indicador de fitotoxicidad, puesto que es función del PGR y del CRR. Incluso en casos similares a éste, cuando el CRR es más sensible que el PGR, el IG ha mostrado ser la variable más adecuada para evaluar la fitotoxicidad (Varnero *et al.*, 2007).

El IG se correlacionó positivamente con el CRR, lo que se manifiesta en la tendencia que muestran los resultados, teniendo la avena los resultados más altos y la lechuga los más bajos. También hay correlación positiva con el pH, medido en H_2O y $CaCl_2$ $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. El IG mostró correlación negativa con las concentraciones de aluminio e hidrógeno (Apéndice V). Todo lo anterior permite estimar un rango de fitotoxicidad con una medición de pH en agua destilada o en cloruro de calcio, un hecho muy importante para planes de remediación de suelos afectados por lluvia ácida o que presenten acidificación natural como

ocurre en el sur de Chile, puesto que se podrían calcular dosis de encalado para subir el pH hasta una condición deseable para el establecimiento de una cobertura vegetal.

Tanto en el caso del IG como en su componente CRR, la cebada mostró tener correlaciones significativas negativas y los mayores coeficientes de determinación en las regresiones.

5.2.5. Biomasa radical (BR)

Los resultados por especie son los siguientes:

5.2.5.1. Avena (*Avena sativa* L. cv. Nehuén). La BR presenta diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en cuanto a la distancia a la fundición y a la profundidad de muestreo. En la Figura 34 se ve cómo los valores de la BR no siguen la misma tendencia que el CRR y el IG. Se observa que a la profundidad P3 los valores presentan diferencias menores en relación a la distancia de muestreo, mostrando mayor homogeneidad que en las otras dos profundidades. Se ve también que los mayores valores de la BR se dan en los sitios D3 y D4. Los valores se presentan en el Apéndice IX.

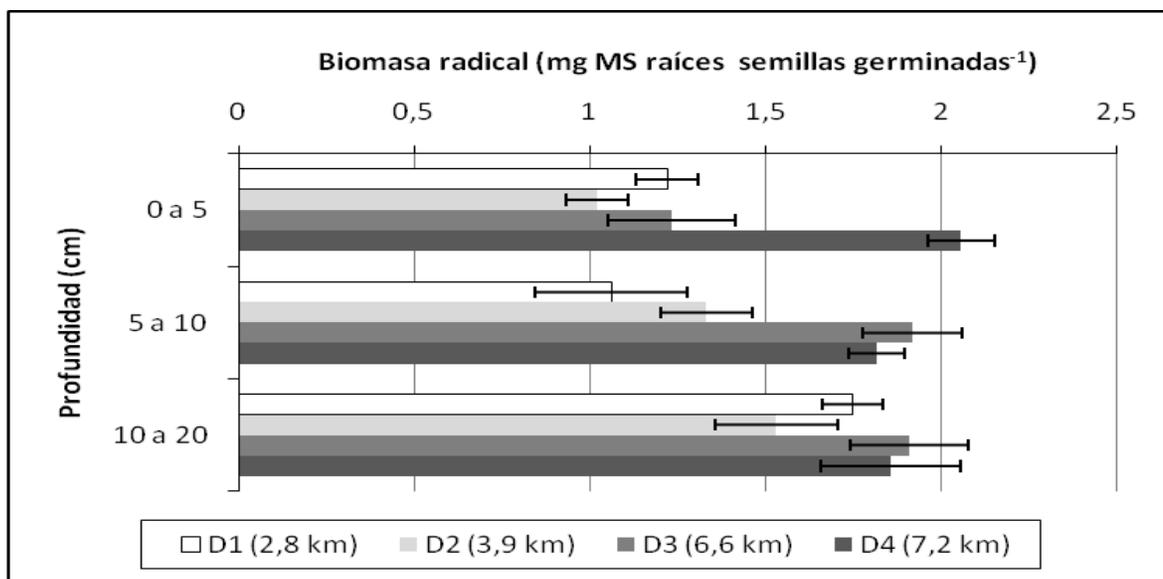


Figura 34: Valores de la BR para avena en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Los resultados de BR no presentan correlación con las concentraciones de aluminio e hidrógeno intercambiables del suelo (Apéndice V). La mejor relación entre los datos se obtuvo, en ambos casos, con una curva de tendencia lineal (Apéndice X).

5.2.5.2. Cebada (*Hordeum vulgare* L. cv. *Libra*). En este caso la BR sólo presentó diferencias significativas ($p \leq 0,05$) con el factor profundidad. En la Figura 35 se observa cómo la BR es menor en las muestras del estrato más profundo (P3). Lo anterior es contrario a lo visto con el CRR y el IG en el caso de la cebada, donde en general a mayor distancia y profundidad los valores de estos indicadores de fitotoxicidad son mayores, lo que indica menor fitotoxicidad en profundidad (valores en Apéndice IX)

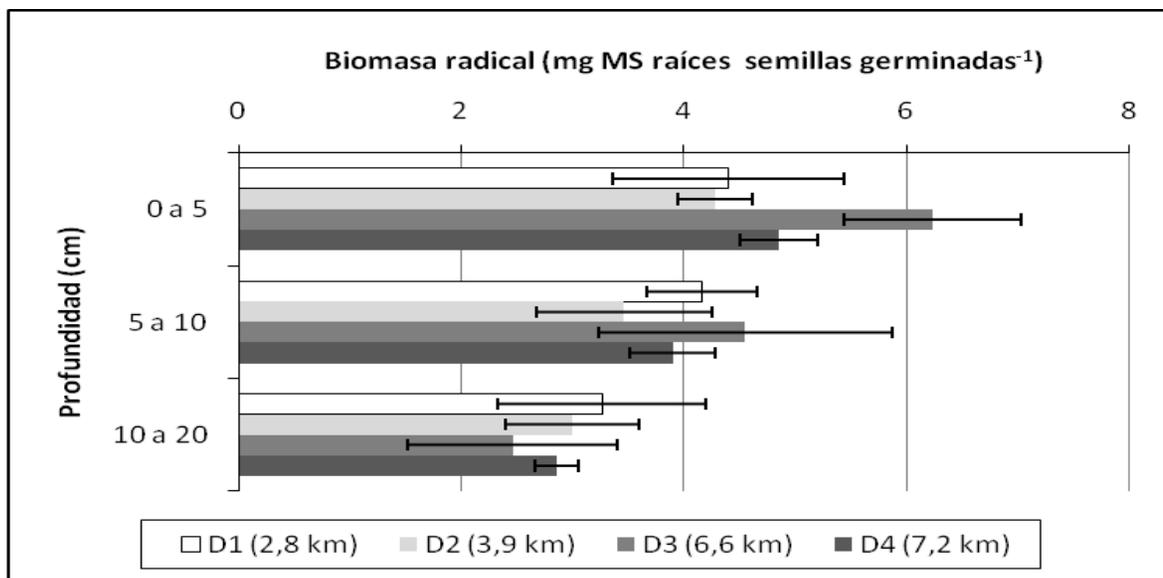


Figura 35: Valores de la BR para cebada en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Al igual que en el caso de la avena no existe correlación entre la BR y el aluminio intercambiable del suelo (Apéndice V). Lo mismo ocurre con la concentración de H^+ . En ambos casos el mejor ajuste entre los datos mostró una tendencia lineal (Apéndice X).

5.2.5.3. Lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *capitata* cv. *Cuatro Estaciones*). En este caso no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en cuanto a la distancia a la fundición de cobre de Caletones y a la profundidad de muestreo. La Figura 36 muestra los resultados para las cuatro distancias y las tres profundidades de muestreo de los suelos (ver valores en Apéndice XI).

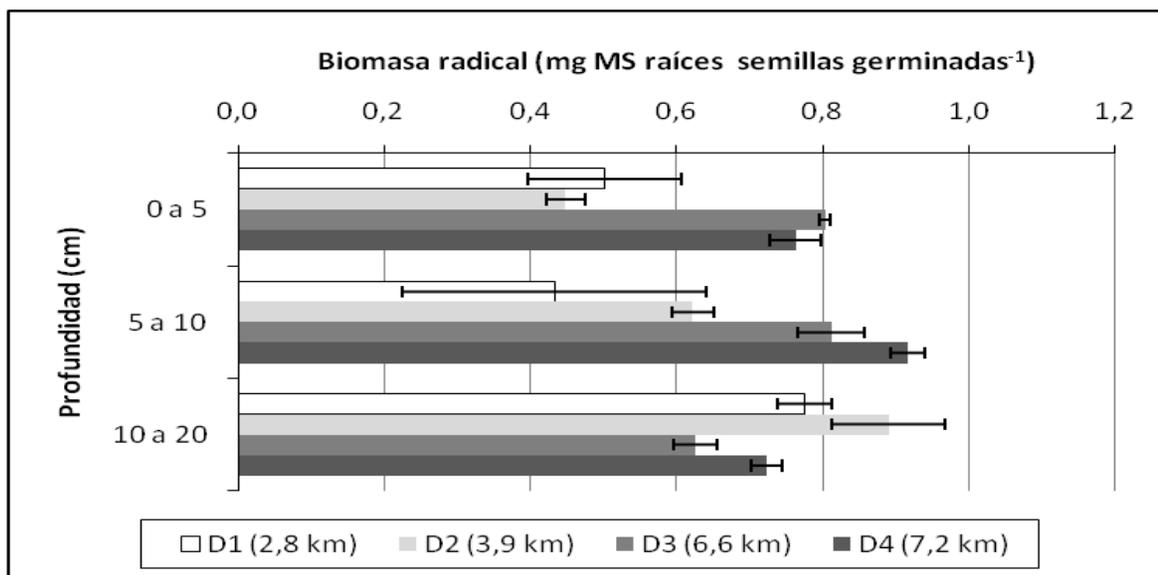


Figura 36: Valores de la BR para lechuga en relación a la profundidad de muestreo y distancia a la fundición de Caletones. Las barras de error representan ± 1 error estándar.

Tampoco hubo correlación entre la BR y la concentración de aluminio intercambiable del suelo y la concentración molar de H^+ (Apéndice V). A diferencia de la avena y la cebada, el mejor ajuste de los datos mostró una curva de tendencia potencial para aluminio y una lineal para hidrógeno, como muestra el Apéndice X.

5.2.5.4. Discusión general de la BR. Al analizar en conjunto los resultados de la BR de las tres especies se encuentra que no muestran un patrón de comportamiento común, además no existe correlación con las concentraciones de aluminio y de iones hidrógeno del suelo.

La disminución de la BR con el aumento de la concentración de aluminio en solución es un hecho documentado por Marschner (1993) y Kochian (1995), sin embargo Pinochet *et al.* (2003) al estudiar la fitotoxicidad por aluminio con especies forrajeras naturalizadas del sur del país tampoco encontraron diferencias significativas en los valores de la BR, atribuyendo dichos resultados a no utilizar las mismas concentraciones de aluminio que en otros estudios.

Prácticamente todos los estudios referentes a la fitotoxicidad por aluminio se realizan en soluciones nutritivas controladas, en donde se pretende determinar la sensibilidad o tolerancia de una especie o cultivar a una concentración dada de aluminio (e.g. Eticha *et al.*, 2005; Giannakoula *et al.*, 2008), sin embargo, este estudio se llevó a cabo a partir de extractos de suelo puesto que el interés era determinar si en ellos se presentaba fitotoxicidad por aluminio. Una posible respuesta a que no se hayan encontrado altas correlaciones entre los contenidos de aluminio del suelo y los valores BR obtenidos experimentalmente puede ser la diferente metodología de trabajo respecto a los estudios donde sí se encontró correlación, como lo indica Pinochet *et al.* (2003).

Otra razón para no encontrar correlación entre la concentración de aluminio y los valores de la BR puede estar en la misma sintomatología que causa el aluminio en las raíces de las plantas. Como se dijo en la sección referente a los resultados de sintomatología visual (figuras 21, 22 y 23), el aluminio afecta la arquitectura radical, corroborando lo encontrado por Clarkson (1969; citado por Poschnreider *et al.*, 2008), y hace que el sistema radical presente un tono pardo, con raíces cortas y engrosadas coincidiendo con Alam *et al* (1979; citado por Feixa, 2001). Estos síntomas explicarían que aún cuando haya menor crecimiento radical a mayor aluminio en el suelo, la BR no se vea afectada, concordando con Blair *et al.*, 2009, ya que el aumento en biomasa se debería al engrosamiento de las raíces.

En cuanto a la BR como indicador de fitotoxicidad por aluminio, Borie *et al.* (1994) señalan que su uso es inadecuado, debido principalmente al engrosamiento de la raíz que provoca el aluminio, lo cual coincide con los resultados de esta investigación. En algunos estudios se ha visto que es mejor evaluar la fitotoxicidad en términos de concentración de aluminio en la raíz, como el realizado por Toneatti y Rivera (2005) en suelos derivados de cenizas volcánicas en el sur de Chile, en donde se han encontrado diferencias significativas entre las concentraciones de aluminio en las raíces que se desarrollaron en suelos con diferentes concentraciones de aluminio intercambiable.

En el presente estudio sólo la avena mostró una tendencia a disminuir su BR al aumentar el contenido de aluminio en el suelo. Esto puede deberse a que, como se dijo en la sección dedicada al CRR, es la especie que mejor tolera el aluminio de las tres utilizadas, por lo cual se esperaría que presentase menor sintomatología, es decir un menor engrosamiento en su sistema radical, lo que explicaría porqué sus resultados no son tan erráticos como en el caso de cebada y lechuga.

La BR no se correlacionó con ninguna variable (Apéndice V), lo cual indica que no es un buen indicador de fitotoxicidad por aluminio en suelos ácidos.

6. CONCLUSIONES

Del estudio realizado para determinar la fitotoxicidad por aluminio en suelos cercanos a la fundición de cobre de Caletones, afectados por lluvia ácida, se concluye que:

La lluvia ácida generada por las emanaciones de la fundición posee un patrón determinado. Este patrón de depositación provoca distintos niveles de acidez en relación con la distancia a la fundición y profundidad de muestreo, lo que se relaciona directamente con los valores de pH y las concentraciones de aluminio intercambiable encontradas.

De las cuatro variables de fitotoxicidad determinadas en este estudio utilizando avena, cebada y lechuga, sólo el crecimiento radical relativo (CRR) y el índice de germinación (IG) mostraron una alta correlación con los contenidos de aluminio e hidrógeno intercambiables, siendo en general mayor la correlación del IG.

Si bien las variables de fitotoxicidad de las tres especies mostraron tener correlaciones significativas con la concentración molar de H^+ del suelo derivada a partir del pH- H_2O , la sintomatología que presentaban las raíces concordaba con la fitotoxicidad por aluminio descrita en la literatura, por lo que la determinación del pH del suelo pasa a ser un claro indicador del nivel de aluminio y de su posible efecto fitotóxico. Esto es de gran utilidad ya que la medición de pH del suelo es más rápida y demanda menos recursos que la determinación de la concentración de aluminio.

Mediante el CRR y el IG es posible observar el efecto fitotóxico del aluminio intercambiable, presente en altas concentraciones en los suelos circundantes a la fundición de cobre de Caletones, como consecuencia directa de la acidificación de los suelos por la lluvia ácida que se genera en el sector, debido a las constantes emisiones de óxidos de nitrógeno y azufre. Los niveles de fitotoxicidad por la lluvia ácida en los suelos circundantes a la fundición son altos, y siguen un patrón determinado en función de la distancia a la fundición y profundidad del suelo, siendo significativamente mayores en los puntos más cercanos y en superficie, disminuyendo en profundidad. La fitotoxicidad se reduce a un mínimo en el punto más distante, a 7,2 km desde la fundición (sector considerado como control).

El nivel de degradación, y con ello el nivel de fitotoxicidad, está en función del movimiento de la nube gaseosa desde la fundición y del tiempo que los gases tengan para reaccionar, lo que provoca que el mayor efecto fitotóxico del aluminio ocurra a las distancias de 3,2 y 6,6 km.

Las tres especies mostraron correlaciones significativas entre los valores de CRR y de IG con las concentraciones de aluminio del suelo, siendo la avena la más tolerante y la lechuga la más intolerante o sensible. Las respuestas de las especies muestran el potencial de éstas para ser utilizadas como bio-indicadores de fitotoxicidad por aluminio, sin embargo el

manejo de las semillas de lechuga es dificultoso, por lo cual en estudios similares se recomienda el uso de avena o cebada ya que, además de ser más fácil su manipulación, presentan mejor correlación con el aluminio.

Considerando que el IG fue la variable que mejor se correlacionó con el aluminio intercambiable, el mejor bio-indicador del estudio es la cebada, debido a que presenta la más alta correlación entre ambas variables.

7. BIBLIOGRAFÍA

ABDALLA, M. 2008. Physiological aspects of aluminum toxicity on some metabolic and hormonal contents of *Hordeum vulgare* seedlings. Australian Journal of Basic and Applied Science 2 (3): 549-560.

AGUIRRE, J. 2001. Estudio de la adición de aluminio a los suelos de la zona sur de Chile para modificar su contenido de aluminio intercambiable y aluminio en solución. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. Valdivia, Chile. 102 p.

ÁLVAREZ, E., M. L. FERNANDEZ-MARCOS, C. MONTERROSO and M. J. FERNANDEZ-SANJURJO. 2005. Application of aluminum toxicity indices to soils under various forest species. Forest Ecology and Management 211: 227-239.

ANDRÉ, F., M. JONARD and Q. PONETTE. 2007. Influence of meteorological factors and polluting environment on rain chemistry and wet deposition in a rural area near Chimary, Belgium. Atmospheric Environment 41: 1426-1439.

BARCELÓ, J. and C. POSCHENRIEDER. 2002. Fast growth responses, root exudates and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminum toxicity and resistance: a review. Environmental and Experimental Botany 48: 75-92.

BARTLETT, R. and B. JAMES. 1980. Studying dried, stored soil samples-somes pitfalls. Soils Sci. Am. J. 44: 721-724.

BLAIR, M. W., H. D. LOPEZ-MARIN and I. M. RAO. 2009. Identification of aluminum resistant Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. Brazilian Journal of Plant Physiology 21 (4): 291-300.

BLOOM, P. R. 2000. Soil pH and pH Buffering. pp: B333-B352. In: Sumner, M. E. (Ed.). Handbook of soil science. CRS press. Boca Raton, USA. 2049 p.

BOHN, H. L., B. L. MCNEAL and G. A. O'CONNOR. 2001. Soil chemistry. 3rd Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA. 307 p.

BORIE, F., A. MORALES y M. PINO. 1992. Toxicidad de acidez y aluminio sobre plántulas de trébol rosado y trébol blanco, crecidos en solución nutritiva. Agricultura Técnica 52 (2): 134-138.

BORIE, F., B. STANGE, A. MORALES, y M. PINO. 1994. Efecto del aluminio y acidez sobre la elongación radical de cebada (*Hordeum vulgare* L.) y avena (*Avena sativa* L.). Agricultura Técnica 54 (3): 224-230.

BRADY, N.C. and R.R. WEIL. 2002. The nature and properties of soils. 13th Ed. Prentice Hall. New Jersey, USA. 960 p.

BURT, R., M. A. WILSON, T. J. KECK, B. D. DOUGHERTY, D. E. STROM and J. A. LINDAHL. 2003. Trace element speciation in selected smelter-contaminated soil in Anaconda and Deer Lodge Valley, Montana, USA. *Advances in Environmental Research* 8: 51-67.

CASIERRA-POSADA, F., J. CARDENAS-HERNANDEZ and H. A. ROA. 2008. The effect of aluminum on wheat (*Triticum aestivum* L.) and corn (*Zea mays* L.) seed germination. *Orinoquia* 12 (1): 45-56.

CELIS, J., J. SANDOVAL, E. ZAGAL y M. BRIONES. 2006. Efecto de la adición de biosólidos y de salmonicultura sobre la germinación de lechuga (*Lactuca sativa* L.) en un suelo patagónico. *R. C. Suelo Nutr. Veg.* 6 (3): 13-25.

CELIS, J., M. SANDOVAL y M. BRIONES. 2007. Bioensayos de fitotoxicidad de residuos orgánicos en lechuga y ballica anual realizados en un suelo Alfisol degradado. *R. C. Suelo Nutr. Veg.* 7 (3): 51-60.

CENTRO DE INFORMACIÓN DE RECURSOS NATURALES (CIREN). 1996. Estudio agrológico, descripción de suelos materiales y símbolos VI Región. Publicación 114. Santiago, Chile. 479 p.

COSTA DE MACÊDO, C., J. M. KINET and S. LUTTS. 2001. Aluminum effects on citric and malic excretion in roots and calli of rice cultivars. *R. Bras. Fisiol. Veg.* 13 (1): 13-23.

CUMMINS, C. P. 1993. Acid Solutions. pp: 21-44. *In:* Calow, P. (Ed.). Handbook of ecotoxicology. Vol. 2. Blackwell scientific publications. London, England. 416p.

DAVEY, B. G. and M. K. CONYERS. 1988. Determining the pH of acid soils. *Soils Science* 146: 141-150.

DELHAIZE, E. and P. R. RYAN. 1995. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant physiology* 107: 315-321.

DELHAIZE, E., B. D. GRUBER and P. R. RYAN. 2007. The roles of organic anion permeases in aluminum resistance and mineral nutrition. *FEBS Letters* 581: 2255-2262.

DE NOBILI M., M. CONTIN and P. C. BROOKES. 2006. Microbial biomass dynamics in recently air-dried and rewetted soils compared to others stored air-dry for up to 103 years. *Soil biology & biochemistry* 38: 2871-2881.

DÍAZ, V., G. REGINATO y A. CIFUENTES. 1998. Movimiento en el suelo y fitotoxicidad de cinco herbicidas suelo activos sobre portainjertos de manzano y ciruelos de un año de edad. *Investigación Agrícola* 18: 33-37.

ENCALADA, T. 1978. Evaluación de la fitotoxicidad e influencia del almacenaje sobre la germinación de semillas de trigo y cebada tratadas con insecticidas sistémicos y determinación del efecto residual sobre el áfido *Metopolophium dirhodum* (Walker). Tesis Licenciado en Agronomía. Universidad de Chile, Facultad de Agronomía. Santiago, Chile. 49 p.

ETICHA, D., C. THÉ, C. WELCKER, L. NARRO, A. STAB and W. J. HORST. 2005. Aluminum-induced callose formation in root apices: inheritance and selection trait for adaptation of tropical maize to acid soils. *Fields Crop Research* 93: 252-263.

EVANS, L.S. 1984. Botanical aspects of acidic precipitation. *Bot. Rev.* 50: 449-490.

FAIGUENBAUM, H. 2003. Labranza, siembra y producción de los principales cultivos de Chile. Ograma S.A. Santiago, Chile. 760 p.

FEIXA, X. 2001. Poliaminas y tolerancia el aluminio en variedades tolerantes y sensibles de *Zea mays*. Tesis Doctoral en Ciencias. Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Ciencias. Barcelona, España. 172 p.

FILIPOVÁ, L., R. HÉDL and N. COVACEVICH. 2010. Variability of soil types in wetland meadows in the south of Chilean Patagonia. *Chilean Journal of Agricultural Research* 70 (2): 266-277.

FRANTZIOS, G., B GALATIS and P. APOSTOLAKOS. 2000. Aluminum effects on microtubule organization in dividing root-tips cells of *Triticum turgidum*. I. Mitotic cell. *New Phytol* 145: 211-224.

FRANTZIOS, G., B. GALATIS and P. APOSTOLAKOS. 2001. Aluminum effects on microtubule organization in dividing root-tip cells of *Triticum turgidum*. II Cytokinetic cells. *J. Plant. Res.* 114: 157-170.

GARZON, T. 2003. Estudio de la compartimentación de plantas modelo sometidas a estrés por aluminio. Tesis Doctoral en Ciencias. Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Ciencias. Barcelona, España. 95 p.

GIANNAKOULA, A., M. MOUSTAKAS, P. MYLONA, I. PAPADAKIS and T. YUPSANIS. 2008. Aluminum tolerance in maize is correlated with increase levels of mineral nutrients, carbohydrates and proline, and decreased levels of peroxidation and Al accumulation. *Journal of Plant Physiology* 165: 385-396.

- GIAVENO, C. D. and J. B. MIRANDA. 2000. Rapid screening for aluminum tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Genetics and Molecular Biology* 23 (4): 847-850.
- GINOCCHIO, R., G. CARVALLO, I. TORO, E. BUSTAMANTE, Y. SILVA and N. SEPULVEDA. 2004. Micro-spatial variations of soil pollution and plant recruitment near a copper smelter in Central Chile. *Environmental Pollution* 127 (3): 343-352.
- GRAGNANI, A., M. GATTO and S. RINALDI. 1998. Acid deposition, plant pest and the fate of forest ecosystem. *Theoretical Population Biology* 54: 257-269.
- GUO, T., Y. CHEN, Y. ZHANG and Y. JIN. 2006. Alleviation of Al toxicity in barley by addition of calcium. *Agricultural science in China* 5 (11): 828-833.
- GUO T. R., G. P. ZHANG and Y. H. ZHANG. 2007. Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, cooper and cadmium. *Colloids and Surface. Biointerfaces* 57: 182-188.
- HAVLIN, J., J. D. BEATON, S. L. TISDALE and W. L. NELSON. 2005. Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management. 7th Edition. Pearson-Prentice Hall. New Jersey, USA. 515 p.
- IANNACONE, J., L. ALVARIÑO, C. CABALLERO y J. SÁNCHEZ. 2000. Cuatro ensayos ecotoxicológicos para evaluar lindano y clorpirifos. *Gayana (Concep.)* 64 (2): 139-146.
- INOSTROZA-BLANCHETEAU, C., B. SOTO, P. ULLOA, F. ANQUEA y M. REYES-DIAZ. 2008. Resistance mechanisms of aluminum (Al^{3+}) phytotoxicity in cereals. Physiological, genetic and molecular bases. *J. Soil Sc. Plant Nutr.* 8 (4): 57-71.
- INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIA). 2011. Interpretación de análisis químico de suelos. Disponible en: <http://www.inia.cl/link.cgi/suelo/resultados/7706>. Leído el 04 de marzo de 2011.
- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA (INE). 2009. Indicadores INE ciclos económicos primer trimestre 1996 – segundo trimestre 2009. Disponible en <http://www.ine.cl> . Leído el 11 de noviembre de 2009.
- JONER, E. J., T. D. ELDHUSET, H. LANGE and A. FROSTEGÅRD. 2005. Changes in the microbial community in a forest soil amended with aluminum *in situ*. *Plant & Soil* 275: 295-304.
- JUNGJOHANN, J. A., L. LONGERI e I. VIDAL. 1997. Tolerancia diferencial de cultivares de trigo al aluminio. *Agricultura Técnica* 57 (3): 169-176.

KAPUSTKA, L.A. and M. REPORTER. 1993. Terrestrial primary producers. pp: 278-299. *In: Calow, P. (Ed.). Handbook of ecotoxicology. Vol. 1. Blackwell scientific publications. London, England. 478p.*

KIKUI, S., T. SASAKI, M. MAEKAWA, A. MIYAO, H. HIROCHIKA, H. MATSUMOTO and Y. YAMAMOTO. 2005. Physiological and genetic analyses of aluminum tolerance in rice, focusing on root growth during germination. *Journal of Inorganic Biochemistry* 99: 1837-1844.

KOCHIAN, L. V. 1995. Cellular mechanisms of aluminum resistance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiology* 46: 237-270.

KOLLMEIER, M., H. FELLE and W.J. HORST. 2000. Genotypical differences in aluminum resistance of maize are expressed in the distal part of the transition zone: is reduced basipetal auxin flow involved in inhibition of root elongation by aluminum? *Plant Physiology* 122: 945-956.

LEMUS, M. 2008. Degradación química y biológica en suelos cercanos a la fundición de cobre Caletones, VI región Chile. Memoria Ingeniero Forestal. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. Santiago, Chile. 43p.

LUZIO, W., M. CASANOVA y W. VERA. 2006. Clasificación de suelos. pp: 241-286. *In: Avances en el conocimiento de los suelos de Chile. (Luzio, W. y Casanova, M. Eds.). Universidad de Chile. Santiago, Chile. 393 p.*

LUZIO, W., O. SEGUEL y M. CASANOVA. 2010. Suelos de la Zona Mediterránea Árida (desde 32°00' LS hasta 37°45' LS). pp: 125-194. *In: Suelos de Chile. (Luzio, W. Ed.). Universidad de Chile. Santiago, Chile. 364p.*

MA, J. F., P. R. RYAN and E. DELHAIZE. 2001. Aluminum tolerance in plants and the complexing role of organic acids. Review. *Trends in Plant Sci.* 6: 273-278.

MA, Q.F., Z RENGEL and J. KUO. 2002. Aluminum toxicity in rye (*Secale cereale*): Root growth and dynamics of cytoplasmic Ca^{2+} in intact root tips. *Ann Bot* 89: 241-244.

MANAHAN, S. 1999. Environmental chemistry. 7th Edition. Lewis Publishers. Washington D.C., USA. 898 p.

MATILLA, A. J. 2008. Desarrollo y germinación de las semillas. pp: 537-558. *In: Azcón-Bieto, J., Talón M. (Eds.). Fundamentos de fisiología vegetal. 2º Ed. McGraw-Hill. Madrid, España. 651p.*

MAROTO, J. V. 1995. Horticultura herbácea especial. Mundi-prensa. 4º Edición. Madrid, España. 611 p.

- MARTINEZ, P. 2008. Efecto de la aplicación de lodos en la germinación de lechuga (*Lactuca sativa* L.) y en la biomasa de ballica italiana (*Lolium multiflorum* L.) en suelo Entisol y Alfisol. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Concepción, Facultad de Agronomía. Concepción, Chile. 47p.
- MARSCHNER, H. 1993. Mineral nutrition in higher plants. 2nd Edition. Academic Press. Harcourt Brace and Company. San Diego, USA. 889 p.
- NAGASE, Y. and E. C. D. SILVA. 2007. Acid rain in China and Japan: A game-theoretic analysis. *Regional Science and Urban Economics* 37: 100-120.
- NEWMAN, M. C. 1998. Fundamentals of ecotoxicology. Lewis Publishers. Boca Raton, USA. 402 p.
- OUYANG, X., G. ZHOU, Z. HUANG, J. LIU, D. ZHANG and J. LI. 2008. Effect of simulated acid rain on potential carbon and nitrogen mineralization in forest soils. *Pedosphere* 18 (4): 503-514.
- PEÑALOZA, E., J. MARTINEZ, A. MONTENEGRO y L. J. CORCUERA. 2004. Respuesta de dos especies de lupino a aluminio fitotóxico. *Agricultura Técnica* 64 (8): 127-138.
- PERVEEN, A., I. I. NAQVI, R. SHAH and A. HASNAIN. 2008. Comparative germination of barley seeds (*Hordeum vulgare*) soaked in alkaline media and effects on starch and soluble proteins. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* 12 (3): 5-9.
- PHILLIPS, D. R. and T. BOLGER. 1998. Sublethal toxic effects of aluminum on the earthworms *Eisenia foetida*. *Pedobiología* 42 (2): 125-130.
- PINOCHET, D., O. BALOCCHI y J. PONCE. 2003. Fitotoxicidad de bajas concentraciones de aluminio en solución, en tres poáceas forrajeras. *R. C. Suelo Nutr. Veg.* 3 (1): 8-16.
- POSCHENRIEDER C., B. GUNSÉ, I. CORRALES and J. BARCELÓ. 2008. A glance into aluminum toxicity and resistance in plants. *Science of total environmental* 400: 356-368.
- RENGEL, Z. 1996. Uptake of aluminum by plant cells. *New Phytol.* 134: 389-406.
- RODRIGUEZ, H. H., R. RAMIREZ y J. E. WILLIAMS. 1986. Respuesta de cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench.) a la toxicidad del aluminio en soluciones nutritivas. *Agronomía Tropical* 36 (4): 89-96.

- ROJAS, C., R. ORELLANA, E. SOTOMAYOR y M. T. VARNERO. 2005. Fitotoxicidad de extractos de residuos orgánicos y su efecto sobre el índice de germinación de rabanito y pepino. *R.C. Suelo y Nutr. Veg.* 5 (2): 61-66.
- ROUT, G. S. SAMANTARAY and P. DAS. 2001. Aluminum toxicity in plants: a review. *Agronomie* 21: 3-21.
- ROY, B. and A. B. MANDAL. 2005. Towards development of Al-toxicity tolerant lines in indica rice by exploiting somaclonal variation. *Euphytica* 145: 221-227.
- SADZAWKA, A. 2006. Propiedades físico-químicas de los suelos. I: Reacción (pH), acidez y alcalinidad. pp: 91-127. *In: Luzio, W., Casanova M. (Eds.). Avances en el conocimiento de los suelos de Chile. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 393p.*
- SADZAWKA, A., A. MONTENEGRO, R. CAMPILLO y C. ROJAS. 2000. Relación entre pH-H₂O, pH-KCl, pH-CaCl₂ y otras características químicas en suelos de la IX Región. *Simiente* 70 (3): 85.
- SADZAWKA, A., R. GREZ, M. A. CARRASCO y M. L. MORA. 2004. Métodos de análisis de tejidos vegetales. Comisión de Normalización y Acreditación Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. Santiago, Chile. 53 p.
- SADZAWKA, A., M. A. CARRASCO, R. GREZ, M. L. MORA, H. FLORES y A. NEAMAN. 2006. Métodos de análisis recomendados para los suelos de Chile. Revisión 2006. Series Acta INIA N°34. Santiago, Chile. 164p.
- SANT'ANNA-SANTOS, B., L. CAMPOS DA SILVA, A. ALVES AZEVEDO, J. MARCOS DE ARAÚJO, E. FIGUEREDO ALVES, E. MONTEIRO DA SILVA and R. AGUIAR. 2006. Effects of simulated acid rain on the foliar micromorphology and anatomy of tree tropical species. *Environmental and Experimental Botany* 58: 158-168.
- SANTIBAÑEZ, F. y J. M. URIBE. 1996. Atlas agroclimático de Chile, regiones VI, VII, VIII y IX. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 99 pp.
- SLATTERY W. J. and V. F. BURNETT. 1992. Changes in soil pH due to long term soil storage. *Aust. J. Soil Res.* 30: 169-175.
- SOBERO, M. C. y A. RONCO. 2004. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga. pp: 71-79. *In: Castillo, G. (Ed.). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. IDRC, IMPTA. Ottawa, Canadá. 202p.*
- TANG, Y., M. SORRELLS, L. KOCHIAN and D. GARVIN. 2000. Identification of RFLP markers linked to the barley aluminum tolerance gene *Alp*. *Crop Science* 40: 778-782.

TIQUIA, S. M., N. F. Y. TAM and I. J. HODGKISS. 1996. Effects of composting on phytotoxicity of spent pig-manure sawdust litter. *Environmental Pollution* 93 (3): 249-256.

TONEATTI, M. y N. RIVERA. 2005. Ensayos de tolerancia al aluminio de *Bromus stamineus* y *Bromus lithobius* recolectados en el sur de Chile. *Información Tecnológica* 17 (1): 9-17.

VARNERO, M.T., C. ROJAS y R. ORELLANA. 2007. Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *R.C. Suelo Nutr. Veg.* 7 (1): 28-37.

VIVENTSOVA E., J. KUMPIENE, L. GUNNERIUSSON and A. HOLMGREN. 2005. Changes in soil organic matter composition and quantity with distance to a nickel smelter – a case study on the Kola Peninsula, NW Russia. *Geoderma* 127: 216-226.

WANG, J. W. y C. H. KAO. 2005. Effect of aluminum on endosperm reserve mobilization in germinating rice grains. *Biol. Plantarum.* 49 (3): 405-409.

YAMAMOTO, Y., K. MASAMOTO, S. RIKIISHI, A. HACHIYA, Y. YAMAGUCHI and H. MATSUMOTO. 1996. Aluminum tolerance acquired during phosphate starvation. Cultured tobacco cells. *Plant physiology* 112: 217-227.

ZHENG, S.J and J. L. YANG. 2005. Target sites of aluminum phytotoxicity. *Biol Plant* 3: 321-331.

ZUCCONI, F., A. PERA, M. FORTE and M. DE BERTOLI. 1981. Evaluating toxicity in immature compost. *Biocycle* 22: 54–57.

8. ANEXOS

Anexo I. Términos descriptivos y efectos esperables en cada rango de pH-H₂O del suelo. Fuente: Brady y Weil, 2002.

Término descriptivo	Rango de pH-H ₂ O	Efectos esperables
Ultra ácido	< 3,5	Condiciones muy desfavorables.
Extremadamente ácido	3,6-4,4	Condiciones muy desfavorables.
Muy fuertemente ácido	4,5-5,0	Probable toxicidad de Al.
Fuertemente ácido	5,1-5,5	Exceso de Co, Fe, Mn y Zn. Deficiencia de B, Ca, Cu, K, N, Mg, Mo, P, S. Actividad microbiana escasa
Moderadamente ácido	5,6-6,0	Adecuado para la mayoría de los cultivos
Débilmente ácido	6,1-6,5	Máxima disponibilidad de nutrientes
Neutro	6,6-7,3	Mínimos efectos tóxicos. Bajo pH 7,0 no hay CaCO ₃ .
Débilmente alcalino	7,4-7,8	Suelos generalmente con CaCO ₃ .
Moderadamente alcalino	7,9-8,4	Disminuye la disponibilidad de P. Deficiencia creciente de Co, Cu, Fe, Mn, Zn. Clorosis férrica
Fuertemente alcalino	8,5-9,0	En suelos no sódicos puede haber MgCO ₃ . Mayores problemas de clorosis férrica. Toxicidad de B.
Muy fuertemente alcalino	>9,0	Presencia de carbonato de sodio. Suelo sódico. Actividad microbiana escasa. Condiciones muy desfavorables

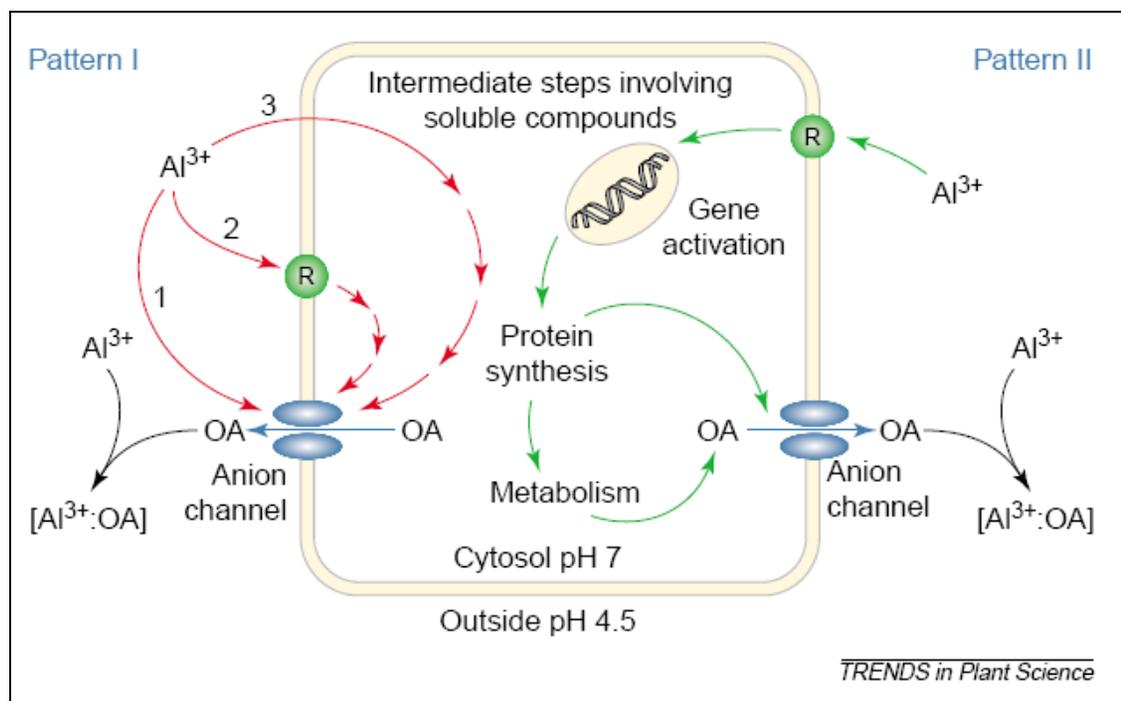
Anexo II. Valores de pH-H₂O obtenidos por Lemus (2008).

Distancia	Profundidad	Situación	pH	Clasificación de Brady y Weil (2002)
D1	P1	S1	3,77	Extremadamente ácido
D1	P2	S2	3,79	Extremadamente ácido
D1	P3	S3	4,28	Extremadamente ácido
D2	P1	S4	3,42	Ultra ácido
D2	P2	S5	3,56	Extremadamente ácido
D2	P3	S6	3,70	Extremadamente ácido
D3	P1	S7	3,44	Ultra ácido
D3	P2	S8	3,62	Extremadamente ácido
D3	P3	S9	3,93	Extremadamente ácido
D4	P1	S10	4,50	Muy fuertemente ácido
D4	P2	S11	4,76	Muy fuertemente ácido
D4	P3	S12	5,01	Muy fuertemente ácido

Anexo III. Interpretación de análisis químico de suelos. Fuente: INIA, CHILE, 2011.

	Rango	Categoría
pH-H ₂ O suspensión 1:2,5 p/v y determinación potenciométrica	≤4,5	Extremadamente ácido
	4,6-5,0	Muy fuertemente ácido
	5,1-5,5	Fuertemente ácido
	5,6-5,9	Moderadamente ácido
	6,0-6,5	Ligeramente ácido
	6,6-7,3	Neutro
	7,4-7,8	Ligeramente alcalino
	7,9-8,4	Moderadamente alcalino
	8,5-9,0	Fuertemente alcalino
>9,0	Muy fuertemente alcalino	
pH-CaCl ₂ suspensión 1:2,5 p/v y determinación potenciométrica	≤3,8	Extremadamente ácido
	3,9-4,3	Muy fuertemente ácido
	4,4-4,8	Fuertemente ácido
	4,9-5,2	Moderadamente ácido
>5,3	Ligeramente ácido	
Aluminio intercambiable (cmol (+) kg ⁻¹ de suelo)	≤0,10	Muy bajo
	0,11-0,25	Bajo
	0,26-0,50	Medio
	0,51-0,80	Alto
	≥0,81	Muy alto

Anexo IV. Modelo de simulación del mecanismo de tolerancia a la fitotoxicidad por aluminio. Fuente Ma *et al.* (2001).



La Figura muestra dos posibles patrones de acción para la estimulación de la secreción de ácidos orgánicos por los ápices radiculares. Para obtener respuestas en el Patrón I (Pattern I), el Al^{3+} activa canales aniónicos en la membrana plasmática, la cual es permeable a los aniones de ácidos orgánicos. Esta activación puede ocurrir por tres vías; la primera de ellas (1) es directamente con la proteína canal para activar su apertura, la segunda (2) es la interacción entre los iones Al^{3+} y receptores específicos (R) en la membrana, lo que genera la activación de un segundo mensajero que activa el canal, y finalmente (3) los iones Al^{3+} entran al citoplasma de la célula, activando los canales directamente o indirectamente a través de segundos mensajeros. Por otra parte, las respuestas en el Patrón II (Pattern II) serían por la interacción entre los cationes Al^{3+} y receptores específicos de la membrana plasmática (R), lo que activaría la transcripción de genes que codifican proteínas implicadas en el metabolismo de ácidos orgánicos o bien en su transporte a través del citoplasma. Aniones de estos ácidos orgánicos forman quelatos estables con los cationes Al^{3+} en la rizósfera, los que no son absorbidos por la planta.

9. APÉNDICES

Apéndice I. Factores e interacciones para pH-H₂O.

Factores e interacciones	Valor pH ³	
Distancia		
D1 (2,8 km desde la fundición)	4,00 ± 0,14	B
D2 (3,9 km desde la fundición)	3,61 ± 0,07	A
D3 (6,6 km desde la fundición)	3,90 ± 0,07	B
D4 (7,2 km desde la fundición)	5,24 ± 0,08	C
Profundidad		
P1 (0 a 5 cm)	3,75 ± 0,19	A
P2 (5 a 10 cm)	3,90 ± 0,18	B
P3 (10 a 20 cm)	4,27 ± 0,19	C
Distancia x profundidad		
D1 x P1	3,84 ± 0,03	A c
D1 x P2	3,86 ± 0,02	A b
D1 x P3	4,67 ± 0,02	B b
D2 x P1	3,46 ± 0,02	A a
D2 x P2	3,56 ± 0,03	A a
D2 x P3	3,94 ± 0,04	B a
D3 x P1	3,67 ± 0,02	A b
D3 x P2	4,06 ± 0,04	B c
D3 x P3	4,13 ± 0,03	B b
D4 x P1	5,10 ± 0,00	A d
D4 x P2	5,18 ± 0,01	AB d
D4 x P3	5,60 ± 0,00	B c

Las letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del primer factor de la interacción. Las letras minúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del segundo factor de la interacción.

³ Se presentan los resultados no transformados. Las transformaciones se usaron sólo para la realización del ANDEVA y para la prueba de Tukey. El análisis estadístico se realizó con la concentración de iones H⁺.

Apéndice II. Coeficiente de correlación de Spearman para valores de pH y concentraciones de aluminio.

	pH-H ₂ O	pH-CaCl ₂
Al ³⁺	-0,846	-0,825
pH-CaCl ₂	0,909	

Correlación de Spearman con una confianza del 99%, valor crítico $\pm 0,727$.

Apéndice III.- Factores e interacciones para pH-CaCl₂.

Factores e interacciones	Valor pH ⁴	
Distancia		
D1 (2,8 km desde la fundición)	3,64 ± 0,14	B
D2 (3,9 km desde la fundición)	3,36 ± 0,05	A
D3 (6,6 km desde la fundición)	3,55 ± 0,05	B
D4 (7,2 km desde la fundición)	4,74 ± 0,07	C
Profundidad		
P1 (0 a 5 cm)	3,49 ± 0,17	A
P2 (5 a 10 cm)	3,57 ± 0,15	B
P3 (10 a 20 cm)	3,89 ± 0,17	C
Distancia x profundidad		
D1 x P1	3,38 ± 0,01	A b
D1 x P2	3,65 ± 0,01	B c
D1 x P3	4,35 ± 0,01	C b
D2 x P1	3,22 ± 0,00	A a
D2 x P2	3,37 ± 0,02	B a
D2 x P3	3,58 ± 0,01	C a
D3 x P1	3,60 ± 0,02	B c
D3 x P2	3,40 ± 0,00	A b
D3 x P3	3,71 ± 0,00	C b
D4 x P1	4,70 ± 0,01	AB d
D4 x P2	4,60 ± 0,01	A d
D4 x P3	5,03 ± 0,01	B c

Las letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del primer factor de la interacción. Las letras minúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del segundo factor de la interacción.

⁴ Se presentan los resultados no transformados. Las transformaciones se usaron sólo para la realización del ANDEVA y para la prueba de Tukey. El análisis estadístico se realizó con la concentración de iones H⁺.

Apéndice IV. Factores e interacciones para el PGR⁵.

Factores e interacciones	PGR avena (%)		PGR cebada (%)		PGR lechuga (%)		
Distancia					(*)		
D1 (2,8 km desde la fundición)	83,76 ± 2,78	A	86,67 ± 9,54	n.s.	82,14 ± 8,27	B	
D2 (3,9 km desde la fundición)	83,76 ± 3,05	A	84,00 ± 6,57	n.s.	101,19 ± 5,11	AB	
D3 (6,6 km desde la fundición)	79,49 ± 6,81	B	76,00 ± 6,27	n.s.	90,48 ± 5,65	AB	
D4 (7,2 km desde la fundición)	91,45 ± 3,88	A	92,00 ± 3,48	n.s.	109,52 ± 5,65	A	
Profundidad							
P1 (0 a 5 cm)	83,97 ± 5,23	n.s.	80,00 ± 7,00	B	86,61 ± 6,45	n.s.	
P2 (5 a 10 cm)	85,90 ± 3,09	n.s.	81,00 ± 5,36	Ab	98,21 ± 5,67	n.s.	
P3 (10 a 20 cm)	83,97 ± 3,14	n.s.	93,00 ± 4,89	A	102,62 ± 5,09	n.s.	
Distancia x profundidad							
D1 x P1	87,18 ± 6,62	A	a	72,00 ± 23,09	n.s.	64,29 ± 18,90	n.s.
D1 x P2	84,62 ± 4,91	A	a	80,00 ± 9,24	n.s.	85,71 ± 13,04	n.s.
D1 x P3	79,49 ± 2,56	A	a	108,00 ± 12,00	n.s.	96,43 ± 6,84	n.s.
D2 x P1	87,18 ± 2,96	A	a	88,00 ± 10,33	n.s.	103,57 ± 6,84	n.s.
D2 x P2	79,49 ± 2,56	A	a	84,00 ± 7,74	n.s.	92,86 ± 7,14	n.s.
D2 x P3	84,62 ± 8,76	A	a	80,00 ± 6,53	n.s.	107,42 ± 12,37	n.s.
D3 x P1	69,23 ± 19,36	B	b	76,00 ± 16,49	n.s.	89,29 ± 10,71	n.s.
D3 x P2	89,74 ± 6,45	A	a	72,00 ± 10,33	n.s.	89,29 ± 8,99	n.s.
D3 x P3	79,49 ± 4,91	A	a	80,00 ± 6,53	n.s.	92,86 ± 12,37	n.s.
D4 x P1	92,31 ± 4,19	A	a	84,00 ± 4,00	n.s.	89,29 ± 6,84	n.s.
D4 x P2	89,74 ± 9,71	A	a	88,00 ± 4,62	n.s.	125,00 ± 3,57	n.s.
D4 x P3	92,31 ± 9,71	A	a	104,00 ± 4,62	n.s.	114,29 ± 8,25	n.s.

n.s.: Sin significancia estadística ($p > 0,05$).

Las letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del primer factor de la interacción. Las letras minúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del segundo factor de la interacción.

⁵ Se presentan los resultados no transformados. La transformación angular de Bliss se usó para la realización del ANDEVA y para la prueba de Tukey.

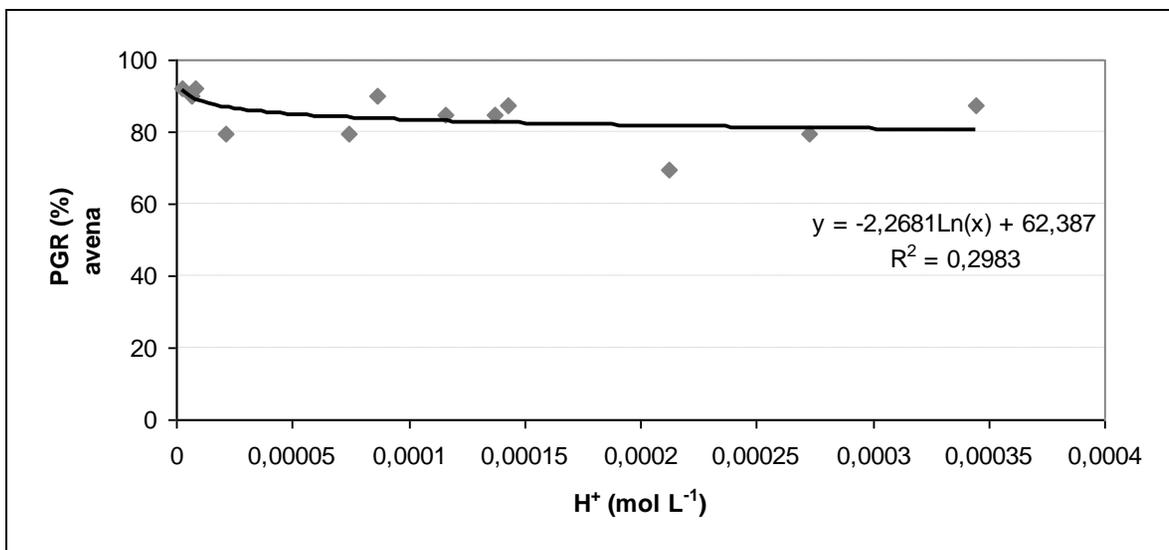
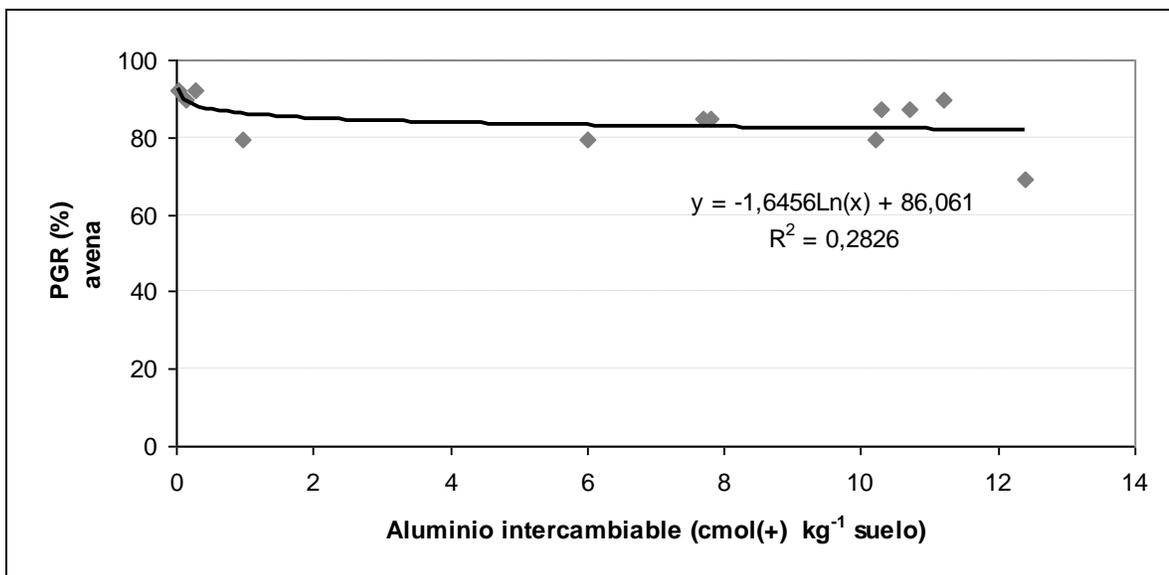
Apéndice V. Coeficiente de correlación de Spearman para las variables de fitotoxicidad.

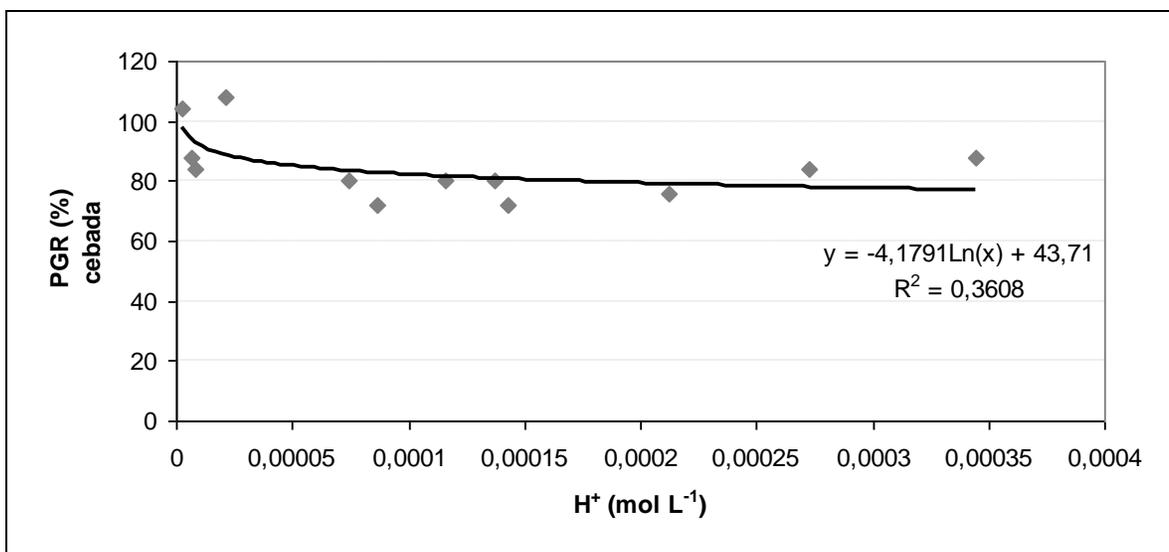
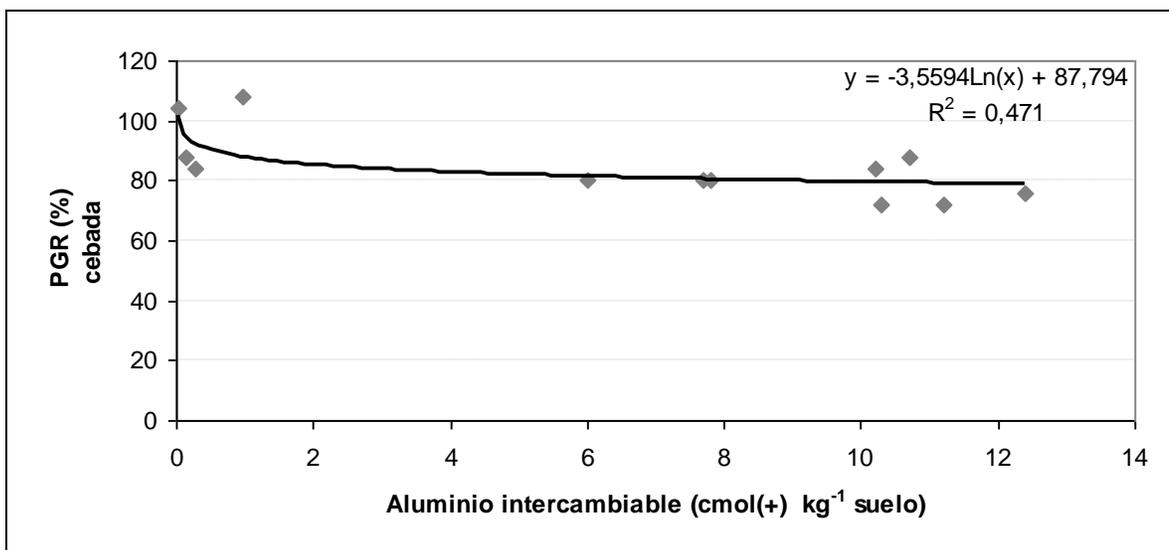
Avena							
	pH-H ₂ O	H ⁺	pH-CaCl ₂	Al ³⁺	PGR	CRR	IG
PGR	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
CRR	0,792	-0,792	0,830	-0,963	n.s.		
IG	0,867	-0,867	0,825	-0,944	n.s.	0,956	
BR	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Cebada							
	pH-H ₂ O	H ⁺	pH-CaCl ₂	Al ³⁺	PGR	CRR	IG
PGR	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
CRR	0,956	-0,956	0,872	-0,946	n.s.		
IG	0,783	-0,783	0,748	-0,951	n.s.	0,904	
BR	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Lechuga							
	pH-H ₂ O	H ⁺	pH-CaCl ₂	Al ³⁺	PGR	CRR	IG
PGR	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.			
CRR	0,923	-0,923	0,926	-0,836	n.s.		
IG	0,933	-0,933	0,899	-0,867	n.s.	0,978	
BR	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

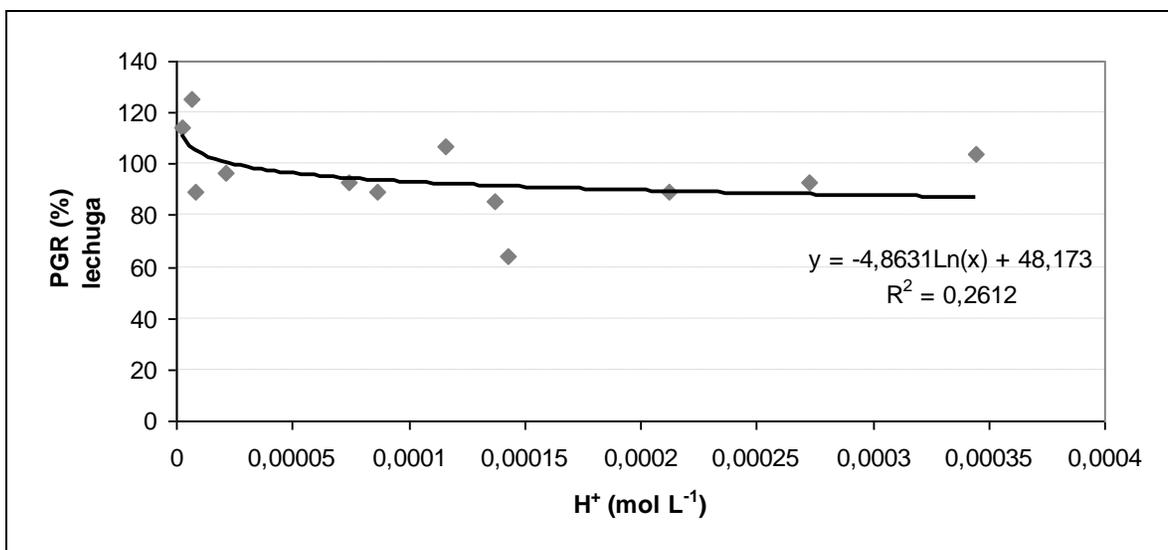
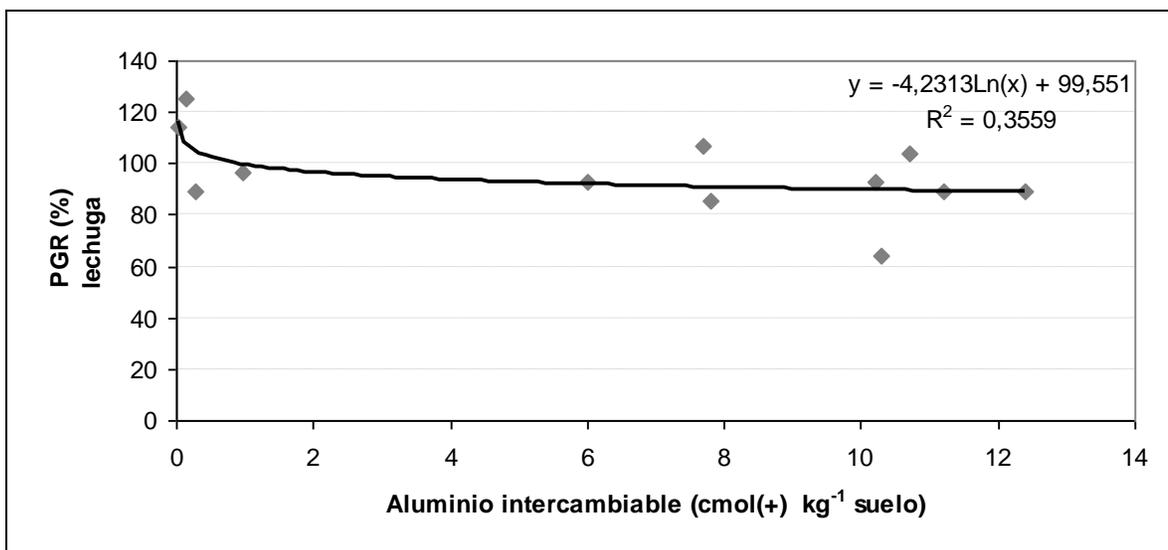
n.s.: correlación no significativa.

Correlación de Spearman con una confianza del 99%, valor crítico $\pm 0,727$.

Apéndice VI. Relaciones entre PGR de avena, cebada y lechuga; con las concentraciones de aluminio e hidrógeno intercambiable del suelo.







Apéndice VII. Pruebas de Kruskal-Wallis del CRR.

Avena					
Factor distancia	N	Mediana	Clasificación del promedio	Z	
D1 (2,8 km desde la fundición)	12	44,08	24,6	0,04	B
D2 (3,9 km desde la fundición)	12	42,25	15,4	- 2,60	C
D3 (6,6 km desde la fundición)	12	36,96	17,0	- 2,15	C
D4 (7,2 km desde la fundición)	12	107,91	41,0	4,71	A
GENERAL	48		24,5		
Factor profundidad	N	Mediana	Clasificación del promedio	Z	
P1 (0 a 5 cm)	16	39,04	20,3	- 1,47	B
P2 (5 a 10 cm)	16	39,29	19,0	- 1,91	B
P3 (10 a 20 cm)	16	76,81	34,2	3,38	A
GENERAL	48		24,5		
Cebada					
Factor distancia	N	Mediana	Clasificación del promedio	Z	
D1	12	44,52	22,8	- 0,48	B
D2	12	39,82	14,6	- 2,83	C
D3	12	42,80	18,1	- 1,83	C
D4	12	96,90	42,5	5,14	A
GENERAL	48		24,5		
Factor profundidad	N	Mediana	Clasificación del promedio	Z	
P1	16	40,12	19,8	- 1,66	B
P2	16	42,68	22,3	- 0,77	B
P3	16	65,24	31,4	2,43	A
GENERAL	48		24,5		
Lechuga					
Factor distancia	N	Mediana	Clasificación del promedio	Z	
D1	12	26,13	20,3	-1,21	B
D2	12	20,70	11,0	-3,85	D
D3	12	27,19	24,2	-0,08	C
D4	12	90,25	42,5	5,14	A
GENERAL	48		24,5		
Factor profundidad	N	Mediana	Clasificación del promedio	Z	
P1	16	24,02	18,1	-2,25	C
P2	16	26,86	25,0	0,16	B
P3	16	55,35	30,5	2,09	A
GENERAL	48		24,5		

Las letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($\alpha \leq 0,05$).

Apéndice VIII. Factores e interacciones para el IG⁶.

Factores e interacciones	IG avena (%)		IG cebada (%)		IG lechuga (%)	
Distancia						
D1 (2,8 km desde la fundición)	51,43 ± 7,25	B	47,57 ± 8,30	B	35,27 ± 8,19	B
D2 (3,9 km desde la fundición)	35,41 ± 2,75	C	32,14 ± 1,94	C	20,27 ± 1,67	C
D3 (6,6 km desde la fundición)	33,47 ± 3,29	C	30,92 ± 2,42	C	28,12 ± 3,19	BC
D4 (7,2 km desde la fundición)	101,52 ± 5,22	A	89,65 ± 4,56	A	99,79 ± 5,27	A
Profundidad						
P1 (0 a 5 cm)	48,50 ± 8,18	B	41,22 ± 5,93	B	32,42 ± 7,26	C
P2 (5 a 10 cm)	49,36 ± 8,20	B	44,46 ± 6,86	B	45,57 ± 10,32	B
P3 (10 a 20 cm)	68,52 ± 7,34	A	64,53 ± 8,08	A	59,59 ± 8,69	A
Distancia x profundidad						
D1 x P1	32,38 ± 2,65	B b	28,48 ± 9,46	B b	11,94 ± 4,32	B b
D1 x P2	36,86 ± 2,92	B b	32,57 ± 2,44	B b	21,97 ± 3,74	B b
D1 x P3	84,06 ± 4,75	A a	81,67 ± 8,80	A b	71,88 ± 3,37	A b
D2 x P1	33,19 ± 3,38	A b	32,76 ± 2,70	A b	15,88 ± 2,92	A b
D2 x P2	30,07 ± 3,83	A b	29,95 ± 4,98	A b	21,97 ± 1,90	A b
D2 x P3	42,99 ± 5,18	A b	33,71 ± 2,62	A c	22,96 ± 2,98	A c
D3 x P1	26,49 ± 7,84	B b	26,38 ± 4,56	A b	22,72 ± 2,74	A b
D3 x P2	31,28 ± 2,29	AB b	27,67 ± 2,27	A b	24,46 ± 2,51	A b
D3 x P3	42,69 ± 2,53	A b	38,70 ± 3,48	A c	37,16 ± 7,40	A c
D4 x P1	100,96 ± 4,44	A a	77,28 ± 0,63	A a	79,13 ± 5,49	B a
D4 x P2	99,24 ± 14,20	A a	87,66 ± 8,36	AB a	113,86 ± 3,63	A a
D4 x P3	104,40 ± 8,57	A a	104,02 ± 6,07	B a	106,38 ± 6,35	A a

Las letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del primer factor de la interacción. Las letras minúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del segundo factor de la interacción.

⁶ Se presentan los resultados no transformados. La transformación angular de Bliss se usó para la realización del ANDEVA y para la prueba de Tukey.

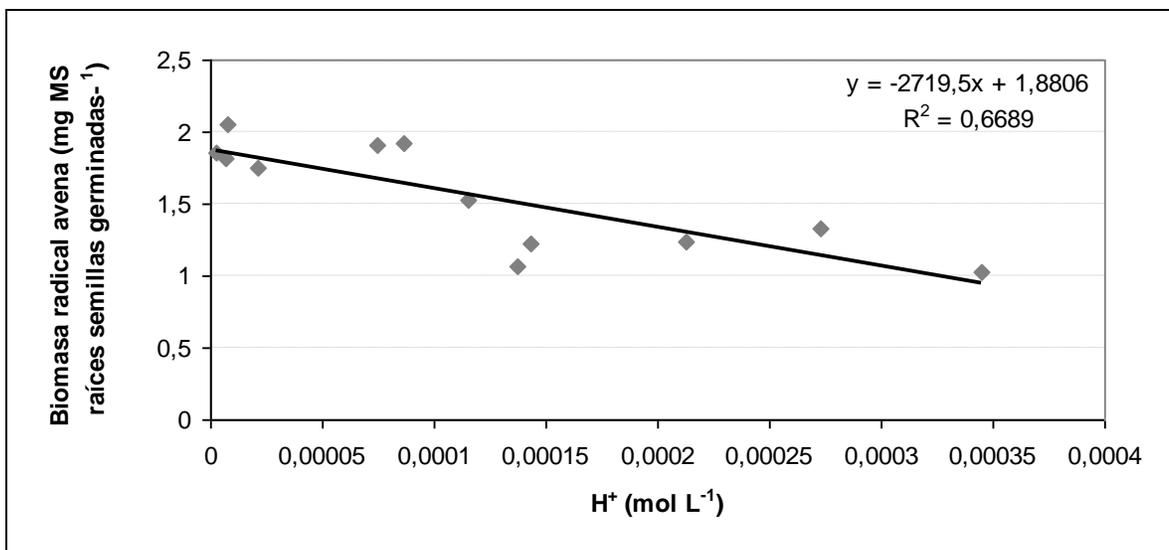
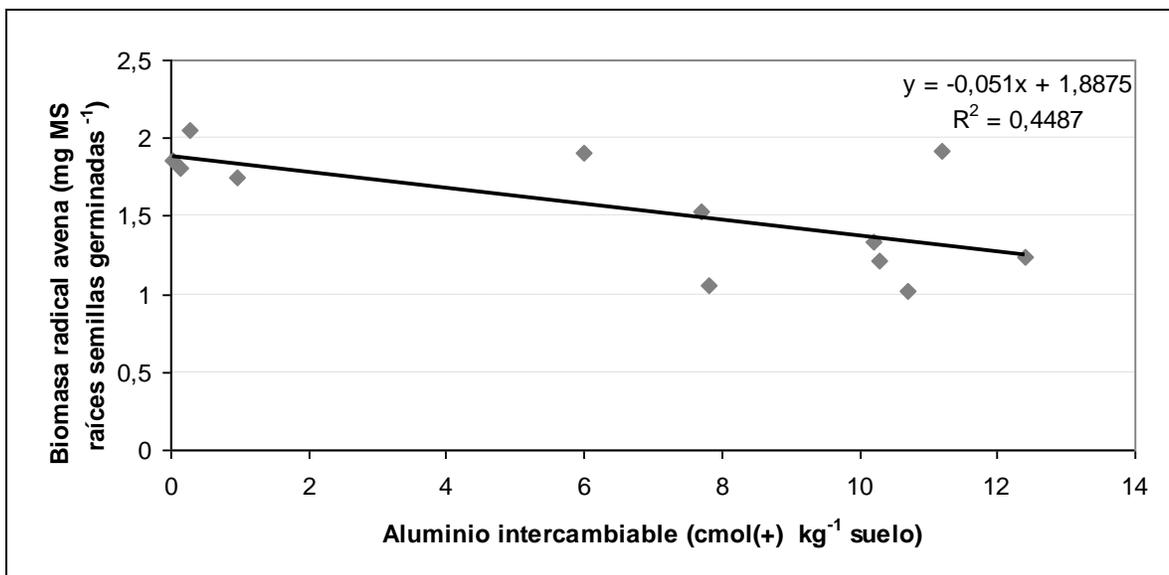
Apéndice IX. Factores e interacciones para la BR.

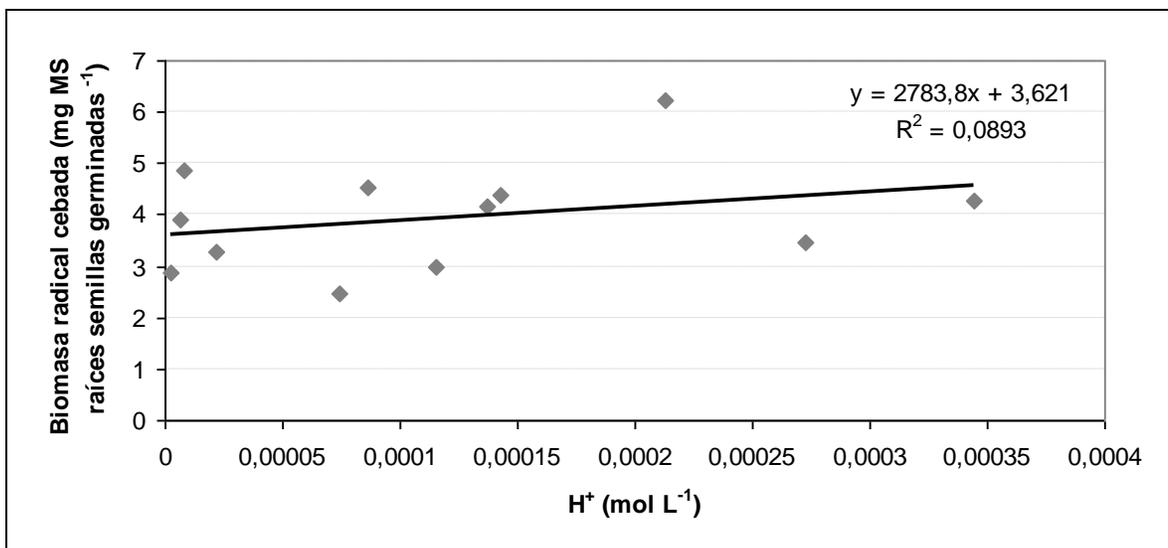
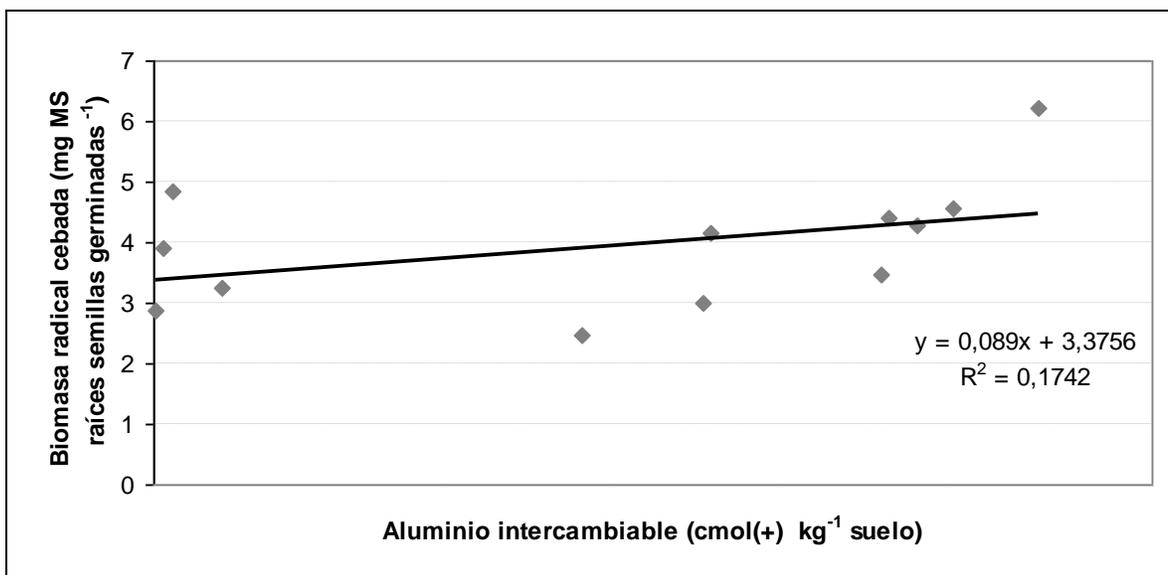
Factores e interacciones	BR Avena (mg MS raíces semillas germinadas ⁻¹)			BR Cebada (mg MS raíces semillas germinadas ⁻¹)	
Distancia					
D1 (2,8 km desde la fundición)	1,342 ± 0,116	B		3,941 ± 0,470	n.s.
D2 (3,9 km desde la fundición)	1,294 ± 0,095	B		3,578 ± 0,354	n.s.
D3 (6,6 km desde la fundición)	1,686 ± 0,129	A		4,416 ± 0,714	n.s.
D4 (7,2 cm desde la fundición)	1,908 ± 0,078	A		3,871 ± 0,296	n.s.
Profundidad					
P1 (0 a 5 cm)	1,382 ± 0,116	B		4,939 ± 0,370	A
P2 (5 a 10 cm)	1,531 ± 0,113	AB		4,019 ± 0,385	AB
P3 (10 a 20 cm)	1,759 ± 0,082	A		2,897 ± 0,336	B
Distancia x profundidad					
D1 x P1	1,220 ± 0,088	B	b	4,393 ± 1,037	n.s.
D1 x P2	1,062 ± 0,217	B	c	4,167 ± 0,497	n.s.
D1 x P3	1,746 ± 0,086	A	a	3,262 ± 0,931	n.s.
D2 x P1	1,021 ± 0,087	B	b	4,281 ± 0,330	n.s.
D2 x P2	1,330 ± 0,130	AB	bc	3,458 ± 0,789	n.s.
D2 x P3	1,530 ± 0,174	A	a	2,996 ± 0,601	n.s.
D3 x P1	1,233 ± 0,181	B	b	6,232 ± 0,790	n.s.
D3 x P2	1,917 ± 0,142	A	a	4,550 ± 1,316	n.s.
D3 x P3	1,908 ± 0,196	A	a	2,467 ± 0,942	n.s.
D4 x P1	2,056 ± 0,096	A	a	4,850 ± 0,350	n.s.
D4 x P2	1,814 ± 0,079	A	ab	3,900 ± 0,382	n.s.
D4 x P3	1,855 ± 0,200	A	a	2,863 ± 0,196	n.s.

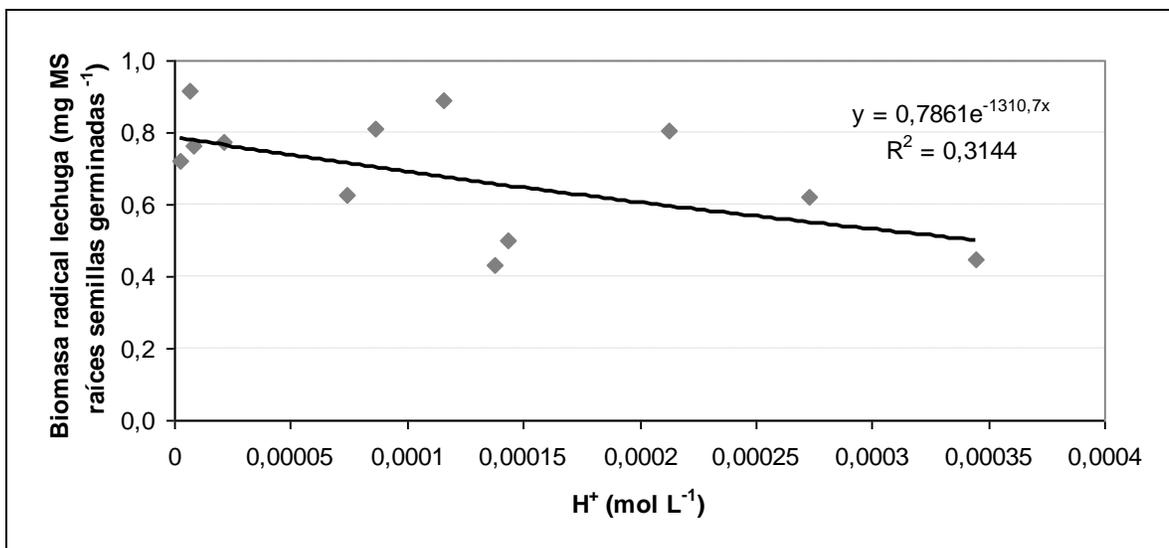
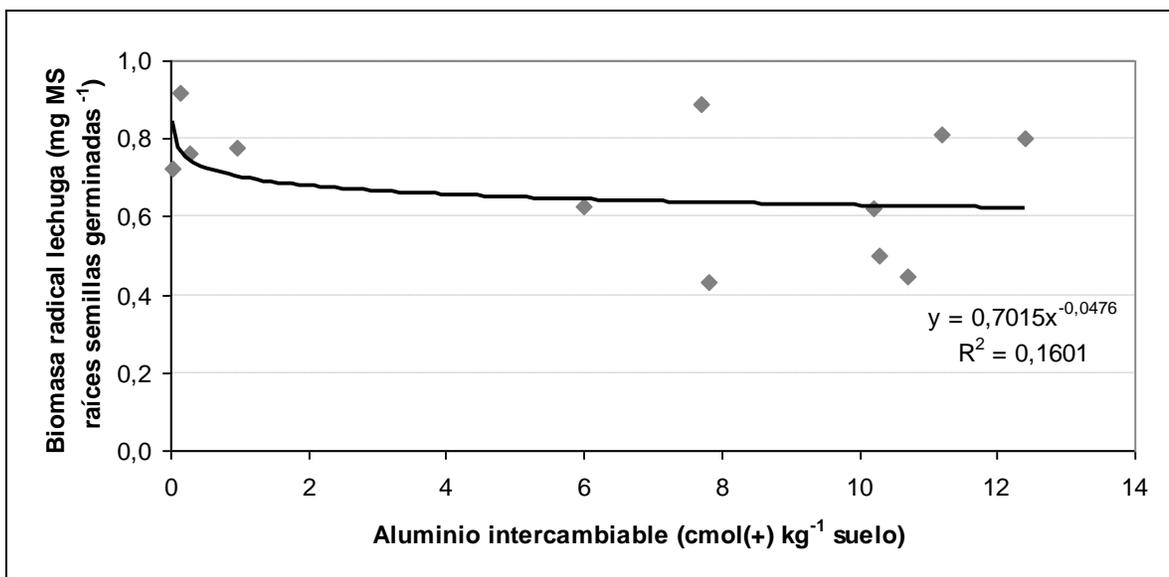
n.s.: Sin significancia estadística ($p > 0,05$).

Las letras mayúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del primer factor de la interacción. Las letras minúsculas distintas indican diferencia estadística significativa ($p \leq 0,05$) dentro del segundo factor de la interacción.

Apéndice X. Relaciones entre BR de avena, cebada y lechuga; con las concentraciones de aluminio intercambiable del suelo.







Apéndice XI.- Prueba Kruskal-Wallis para BR de lechuga.

Factor distancia	N	Mediana	Clasificación del promedio	Z	
D1 (2,8 km desde la fundición)	12	6,333	18,8	- 1,62	n.s.
D2 (3,9 km desde la fundición)	12	6,417	19,6	- 1,39	n.s.
D3 (6,6 km desde la fundición)	12	7,762	27,1	0,75	n.s.
D4 (7,2 km desde la fundición)	12	7,857	32,4	2,26	n.s.
GENERAL	48		24,5		

Factor profundidad	N	Mediana	Clasificación del promedio	Z	
P1 (0 a 5 cm)	16	7,017	19,9	-1,61	n.s.
P2 (5 a 10 cm)	16	7,521	26,6	0,73	n.s.
P3 (10 a 20 cm)	16	7,364	27,0	0,87	n.s.
GENERAL	48		24,5		

n.s.: sin significancia estadística ($\alpha > 0,05$).

