

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE  
VALPARAÍSO**

Facultad de Ciencias Básicas y Matemáticas

Instituto de Bioquímica

**Antioxidantes Enzimáticos y no Enzimáticos Como  
Posibles Marcadores Biológicos del Grado de  
Adaptación de las Plantas a Ambientes Estresantes,  
Como lo es un Vertedero**

Tesis Para Optar al Grado de Licenciado en Bioquímica y al Título de  
Bioquímico

Por :

Dennise Canouet Pérez

Profesor Guía: Dr. Jorge Escobar Fica

**Diciembre, 2000**

**Dedicatoria**

Dedico este trabajo de tesis

a todas aquellas personas

que de alguna u otra forma

aportaron en el transcurso de mi vida.

A todos aquellos  
que confiaron en mi  
y  
que me enseñaron a confiar en mí.

A todos aquellos  
que consciente o inconscientemente  
me enseñaron  
algo esencial de la vida.

Entre ellos quiero hacer mención especial  
de *mis padres*,  
que siempre estuvieron conmigo en los momentos difíciles y en  
los felices también... Y que siguen estando.

De *mis hermanas*,  
que más que hermanas han sido grandes amigas y compañeras.

De *mis primos*,

*tíos*

y

*abuelos,*

que de alguna manera han estado presente en el transcurso de mi aprendizaje, apoyando.

*De mis amigos,*

que sin ser familia, estuvieron conmigo siempre que lo necesité con una incondicionalidad sinceramente sorprendente.

*De mis profesores*

y

*compañeros*

de todas las etapas de mi vida.

Y aquí quiero hacer otra mención especial:

*Claudio Berrios,*

profesor de biología del colegio, por ayudarme a descubrir muchos potenciales que de mi no conocía y que me permitieron entender que podía llegar muy lejos, tanto como yo quisiera.

*Profesor Jorge Escobar,*

por su apoyo. Por recordarnos, cada día, el verdadero sentido de la vida. Por recordarnos lo importante que es mantener un sabio equilibrio entre mente y corazón... Gracias.

Quiero dar un agradecimiento especial a

*Carolina Gallardo*

(¡Caroliña!)

y

*Cristian Mandiola*

por el apoyo incondicional que nos han brindado a todos.

... gracias por haber estado ese día de la presentación del proyecto de tesis esperando para ver como me había ido, nunca lo olvidaré.

En general, doy gracias a la

*vida.*

Y a todos los que encarnamos y reflejamos para el prójimo, es decir, nosotros mismos, como un espejo, diferentes aspectos.

Y mostramos, para el que quiere ver, de forma cariñosa o dolorosa, lo que esta es...

Finalmente quiero dedicar este trabajo de tesis a

*Alejandro*

y

a este

*nuevo ser*

que hemos traído al mundo... Gracias por darme la oportunidad

de ser madre, de amar, de aprender.

De aprender, de aprender y de aprender.

**Dennise.**

## Resumen

El aumento progresivo de la población en el mundo y su nivel de desarrollo han originado en la mayoría de los países un incremento en el volumen de producción de los residuos sólidos. Estos residuos generados en cantidades per cápita importantes, deben ser almacenados, recolectados, transportados y, finalmente sometidos a procesos de disposición final.

Entre los métodos más conocidos para eliminar finalmente las basuras y que se han empleado desde principios de siglo, se tiene: el vertido directo; el vaciado de los residuos al mar, ríos o lagos; la alimentación de animales; el compostaje y los rellenos o vertederos sanitarios. Muchos de estos métodos no sólo han afectado al medio ambiente contaminado, sino que han ocasionado serios impactos ecológicos y paisajísticos.

Actualmente se considera a los rellenos o vertederos sanitarios como la mejor solución técnica, económica y sanitaria para disponer los residuos sólidos, considerando que en países desarrollados como en los Estados Unidos y los de la Unión Europea, a pesar de todos los esfuerzos por incrementar el reciclaje y generar sistemas alternativos al relleno sanitario, sigue siendo la solución para el destino del orden del 70% de los residuos producidos.

Entiendo el relleno sanitariamente controlado como aquel en que se colocan los desechos, compactándolos para que ocupen el menor volumen posible cubriéndolos al final de la jornada diaria o cuando sea necesario con una capa de tierra, para que no afecten el sistema ecológico o se constituyan focos infecciosos, la pregunta que surge es cómo se seleccionará a futuro, el método más adecuado de tratamiento. Para ello, se debe considerar la evolución que experimentará a mediano y largo plazo la gestión de los residuos, ante lo cual se pueden hacer las siguientes consideraciones:

- El ritmo de producción de los residuos sólidos urbanos será previsiblemente creciente. La composición de los residuos también sufrirá variaciones.
- Se incrementará la Proporción de productos reutilizables, esencialmente papel, vidrio, metales. Se desarrollarán nuevos métodos para el reciclado de materiales plásticos.
- Las autoridades estimularán el reciclado de los residuos y el empleo de productos fabricados a partir de materiales recuperados.
- Se limitará la producción y difusión de sustancias tóxicas, especialmente en el ámbito doméstico.
- Se diversificarán los métodos de tratamiento y eliminación aplicables.
- Se combinarán diversos métodos en un mismo ámbito territorial, incluso para un mismo tipo de residuos.
- Se impondrán normas más estrictas de seguridad que optimizara el campo de aplicación del vertido.
- Se desarrollarán nuevos métodos con el propósito de extender la vida útil de los vertederos.

Todas estas consideraciones llevan a la conclusión que si cumplen idealmente las previsiones anteriores, los rellenos sanitarios en un futuro más o menos lejano, deberían tender a tener un uso mancomunado y a optimizar las superficies ocupadas, pero siempre manteniendo su vigencia en la medida que represente la opción óptima, tanto

desde el punto de vista económico como del ambiental y que además otros sistemas de tratamiento o eliminación, produzcan a su vez remanentes y residuos que finalmente deban disponerse en un vertedero.

Ante toda esta realidad, surgen una serie de aspectos que deberían ser mejorados en relación con las prácticas que actualmente se emplean, siendo una de las principales la preocupación por el cierre y rehabilitación de los rellenos sanitarios ya agotados.

Con el propósito de acercarnos a definiciones de carácter más universal y clarificadoras, se propone diferenciar como etapas de Cierre, Sellado y Reinserción a aquellas que corresponden luego de finalizada la operación de un relleno sanitario,

Se entiende por cierre, la operación que da por finalizada la explotación del vertedero o relleno sanitario.

Se entiende por sellado de un vertedero o relleno sanitario, a la operación que se realiza después del cierre y que tiene eventualmente como objetivo preparar la superficie para realizar las futuras obras de rehabilitación del área.

Se entiende por reinserción las faenas destinadas a reincorporar el relleno sanitario ya sellado a su entorno, controlando las emisiones de biogás, líquidos lixiviados, y los problemas que puedan causar los asentamientos, entre otros, de manera que se impida causar impactos negativos al ambiente y la salud pública. En esta etapa se debe terminar de implementar las instalaciones de monitoreo, emplazadas en la etapa de sellado, que sean necesarias para controlar que el emplazamiento no sea causa de contaminación de aire, suelo o agua. La reinserción, habitualmente tiene alguna de las siguientes alternativas de destino: agrícola, recreacional, y/o apoyo a algún tipo de estructura.

La experiencia en Chile sobre empleos y rehabilitación de rellenos sanitarios es importante en comparación con Latinoamérica e incluso por muchos años se ha explotado con éxito en forma comercial el gas recuperado, permitiendo satisfacer sobre el 40% de las necesidades de gas que se distribuyen por red de tuberías, tanto en Santiago como en Valparaíso.

En cuanto a la rehabilitación que se da a los rellenos sanitarios cuando estos han cumplido su periodo de explotación, se ha mencionado que una de las principales alternativas es la recuperación con cubiertas vegetales de estas áreas impactadas. Este

tema no ha sido estudiado en nuestro país con la suficiente profundidad y por lo tanto no se cuenta con datos ni metodologías de aplicación general. Sobre esta materia se ha podido comprobar que aún cuando el país cuenta con experiencias interesantes, ellas presentan algunas carencias en la rigurosidad científica, no ha contado con una difusión amplia, los esfuerzos se han realizado de manera aislada, no se insertan en planes o programas maestros y las iniciativas no han tenido prácticamente ningún grado de coordinación.

La solución de recuperar áreas degradadas mediante la implantación de una cubierta vegetal, requiere contar por lo tanto con información y metodologías que permitan dar respuesta adecuada a las diferentes interrogantes que actualmente existen con relación a la introducción de especies vegetales. Entre estas interrogantes está el aprovechamiento que se puede efectuar de los vegetales que se desarrollen sobre antiguos rellenos sanitarios. Las respuestas que se puedan alcanzar mediante el desarrollo de diferentes investigaciones, tendrán amplia repercusión por la cantidad de vertederos o rellenos sanitarios actualmente existente en el país y porque la selección de especies a introducir en la rehabilitación de estas áreas degradadas, actualmente se realiza considerando principalmente experiencias aplicadas en otros países que no siempre resultan exitosas en escenarios tan heterogéneos como los rellenos sanitarios.

Con respecto al problema mismo, diversos tipos de estrés ambiental podrían limitar el establecimiento de plantas en los suelos de este tipo de áreas (microorganismos patógenos, nemátodos, baja disponibilidad de nutrientes, déficit o saturación por exceso de agua en el suelo, gases, elementos tóxicos, etc.). Estos, han sido descritos en general entre los principales factores del ambiente en afectar la productividad y el desarrollo de las plantas (Koiwa et al 1997; Somssich y Hahlbrock 1998; Bray 1997; Burken y Schnoor 1998). Ha sido descrita la participación de las hormonas producidas como señales entre las raíces y el tallo en las plantas bajo estrés. En las típicas reacciones frente a suelos con problemas (sequía, anegamiento, pobres en nutrientes, compactados, etc.) se incluyen una menor expansión de las hojas, cierre de los estomas y la senescencia de las hojas, generalmente debido a la producción de especies reactivas de  $O_2$  que incluyen: peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), superóxido ( $O_2^-$ ), oxígeno singulete ( $^1O_2^*$ ), y el radical hidroxilo (OH), que como es sabido producen daños a nivel de proteínas y lípidos de membrana. Sin embargo, debido a la heterogeneidad de los sustratos en el que puede ser establecida una cubierta vegetal, se ha hecho indispensable



estudiar por qué algunas especies son capaces de establecer mejor que otras este tipo de ambientes y dependiendo del tipo de relleno, comprender por qué responden a nivel local de manera diferente (Olaeta et al 1997).

Investigaciones realizadas con la finalidad de evaluar el comportamiento natural de una cubierta vegetal formada por diferentes especies de hierbas, arbustos y árboles (Prado et al 1993) sugieren la importancia de realizar en este tipo de plantas una caracterización de diferentes parámetros a nivel metabólico y fisiológico que permitan proponer un patrón de cuales especies tendrían un mejor desarrollo en estas áreas de rehabilitación. Estarían disponibles algunas metodologías que permitirían caracterizar en las plantas este tipo de limitaciones a nivel fisiológico, básicamente evaluando el nivel de diferentes tipos de estrés al que se encuentra sometida una planta en condiciones naturales.

Con respecto a esto último, diferentes tipos de estrés ambiental que afectan la eficiencia de la actividad fotosintética en las plantas han sido recientemente mejor estudiados y caracterizados utilizando de manera complementaria el intercambio de gases (fotosíntesis) y la emisión de fluorescencia de Clorofila a. Esta última metodología en experimentos sobre la fisiología de plantas bajo diferentes tipos de estrés, se ha convertido en un método importante para evaluar el comportamiento fotosintético (Saetón y Walker 1990; Agati et al 1995; Osmond y Grace 1995).

En este proyecto se pretende estudiar en algunas de las especies utilizadas en la rehabilitación de áreas impactadas por el vertido de residuos sólidos, una serie de parámetros relacionados con la defensa de la planta ante el estrés, específicamente estrés oxidativo como indicadores complementarios a los referidos al sustrato y a la condiciones que tendrían las plantas con potencial uso como especies de la cubierta vegetal.

# Antecedentes bibliográficos

## **I. TIPOS DE ESTRÉS QUE AFECTAN A LAS PLANTAS**

### **1. Déficit de agua y resistencia a la desecación**

La disminución del área de hoja se considera como la primera línea de defensa contra la sequía (Taiz & Zeiger 1998). Como la expansión de la hoja depende mayormente de la expansión celular, los principios que están bajo los dos procesos son similares, se inhibe la expansión celular, entonces lenta expansión de la hoja, lo que lleva a la generación de un área de hoja pequeña, baja la transpiración lo que permite la conservación limitada pero en un largo periodo. Otra estrategia es rehidratar en la noche, permitiendo en ese momento la expansión (Taiz & Zeiger 1998).

La deficiencia de agua estimula también la caída de las hojas, luego de haber desarrollado una substancial área de hoja. Incrementa la extensión de las raíces hacia la humedad de capas más profundas de suelo (Taiz & Zeiger 1998). De esto último es interesante tomar en cuenta la relación raíz-brote (balance entre la captación de agua por la raíz y fotosíntesis en el brote). El brote crecerá hasta que él sea tan grande que la captación de agua por las raíces sea limitante para seguir creciendo; por otro lado, las raíces crecerán hasta que la demanda por fotosintetizar del brote se iguale a la suministración de agua.

En plantas que están en época de reproducción lo asimilado es preferencialmente distribuido hacia los frutos, en comparación con plantas vegetativas (Taiz & Zeiger 1998). Esto explica la sensibilidad de la planta a la sequedad en épocas de reproducción. Lo que hace la planta es aumentar la capacidad de crecimiento de la raíz dentro de su programa reproductivo, permitiéndole resistirla sequía.

El estoma se cierra durante el déficit de agua en respuesta al ácido absísico. Lo que se considera una tercera línea de defensa contra la desecación (Taiz & Zeiger 1998). Cuando el inicio del estrés es rápido o la planta ha alcanzado su máxima área de hoja antes de iniciarse el estrés, los estomas se cierran reduciendo la evaporación desde las hojas ya existentes.

La deficiencia en agua limita la fotosíntesis (Taiz & Zeiger 1998). Se cree que se produce un aumento de la concentración de  $Mg^{2+}$ , lo que provocaría una mayor generación de ATP y menor de NADPH, por lo tanto menor  $CO_2$  captado. Como la velocidad de la fotosíntesis se mide en  $\mu mol\ CO_2/m^2 \cdot seg$ , entonces es menor la velocidad de la fotosíntesis.

El ajuste osmótico de las células ayuda a mantener el balance de agua de la planta (Taiz & Zeiger 1998). Se produce un incremento neto en el contenido de soluto por célula, que es independiente del cambio de volumen que resulta de una pérdida de agua. La acumulación de iones ocurre dentro de la vacuola. En el citoplasma se acumulan mayormente solutos compatibles con las enzimas del citoplasma, tales como: prolina, azúcar, sorbitol, aminos cuaternarios, betaína glicina. Aunque no es significativo este ajuste, sirve como adaptación al estrés hídrico.

El déficit de agua altera la energía de disipación desde las hojas (Taiz & Zeiger 1998). Sin deficiencia de agua las plantas pueden mantener su temperatura 800 por debajo del medioambiente en climas áridos y cálidos, que es permitido por la evaporación, desde las hojas, de grandes cantidades de agua. En deficiencia de agua, se limita la transpiración, a menos que se gatillen procesos que compensen la pérdida de refrigeración tales como:

- Disipación de energía extra como “pérdida de calor sensible”.
- Sumando a lo anterior la disminución de área de la hoja, lo que “concentra” la energía y genera una diferencia de potencial mayor entre el medio y la hoja.
- Movimiento de la hoja de tal forma que evita el sol directo.
- El marchitamiento, que persigue lo mismo que el punto anterior.
- Pelos en la superficie de la hoja, o capas de cera reflectora, al igual que los pelos.

Todos estos puntos tienen la salvedad de que también se evita la absorción de la luz en longitudes de onda visibles lo que decrece la asimilación de carbono, por lo tanto son adaptaciones no muy exitosas.

La resistencia al flujo de agua por parte de la planta es otro hecho que provoca el estrés por déficit de agua (Taiz & Zeiger 1998). Distintos factores son los que influyen:

La pérdida de agua provoca la contracción de la célula, lo que se traduce en la contracción de la raíz, y por lo tanto alejamiento de las partículas de agua del suelo (Taiz & Zeiger 1998).

Cubrimiento de la raíz con suberina (un lípido impermeable al agua que incrementa la resistencia al flujo de agua) (Taiz & Zeiger 1998).

El déficit de agua aumenta el depósito de cera en la superficie de la hoja, lo que reduce la pérdida de agua desde la epidermis, pero también reduce la permeabilidad a CO<sub>2</sub> (Taiz & Zeiger 1998). Podría afectar la fotosíntesis, pero las células que están bajo la cutícula de cera no son fotosintéticas.

El déficit de agua puede inducir el metabolismo del ácido crasuláceo (CAM). CAM es una adaptación de la planta en la cual el estoma se abre en la noche y se cierra durante el día y es característico de plantas superiores y de cactus. En la noche, la diferencia de presión de vapor de agua que permite la transpiración, es menor, cuando las hojas y el aire están frescos.

## **2. Toxicidad y resistencia a metales pesados**

Los metales pesados se encuentran naturalmente solo a muy bajas concentraciones. Las elevadas concentraciones son comúnmente asociadas a la contaminación producto de la actividad humana. Los metales pesados pueden afectar el crecimiento de las plantas interfiriendo la actividad de enzimas o impidiendo la absorción de nutrientes esenciales. Muchas plantas son sensibles a los metales pesados, y las que son tolerantes, lo son a muchos de estos. Estas últimas pueden ser divididas en tres grupos (Truong, Paul N.y.; Claridge, Jeromy, 2000):

- Excluidoras, plantas con transporte restringido.
- Plantas index (término en inglés), son aquellas que “reflejan” las concentraciones del suelo.
- Especies acumuladoras, las cuales tienen concentraciones más altas que las del suelo.

Hay considerable variación genética en la capacidad de diversas especies para tolerar cantidades, de otra forma tóxicas, de metales no esenciales como plomo, cadmio, plata, aluminio, mercurio, estaño, etc.

Recientemente se descubrió un mecanismo de tolerancia importante y muy extendido en la filogenia, mediante un quelante llamado fitoquelatina, pequeño péptido rico en el aminoácido azufrado cisteína, que al cumplir su función hace perder la toxicidad del metal. Su formación representa una verdadera respuesta adaptativa a un estrés ambiental. (Salisbury F., Ross C., 1994).

En la siguiente sección dentro de lo que es, Funciones de los elementos, se considerarán las “funciones” de los metales pesados de interés para esta tesis.

## **II. NUTRICIÓN MINERAL**

Rama importante de la fisiología vegetal. Responde a preguntas importantes sobre nutrición de una planta, que han mejorado mucho la agricultura.

El crecimiento vegetal requiere la incorporación de elementos esenciales en los materiales que constituyen las plantas; del 15 al 20% de las plantas no leñosas consiste en tales, y el resto es agua.

En la tabla 1 se presentan los 17 elementos que en la actualidad se consideran esenciales para todas las plantas superiores, así como la forma molecular o iónica que las plantas absorben con mayor facilidad del suelo y el aire, la concentración óptima aproximada en el vegetal y el N° aproximado de átomos de cada elemento que se

necesita en relación con el número de átomos de molibdeno. El aluminio y el silicio se cree no son esenciales para la mayoría de las plantas superiores, nótese que las plantas absorben de las soluciones del suelo y acumulan muchos elementos que no les son esenciales. Se han encontrado al menos 60 elementos en las plantas, incluyendo oro, plomo, mercurio, arsénico y uranio (Salisbury F., Ross C., 1994).

Tabla 1 Elementos esenciales para la mayoría de las plantas superiores y concentraciones internas que se consideran adecuadas (Salisbury F., Ross C., 1994)

Elemento	Forma disponible al vegetal <sup>a</sup>	Concentración en tejido seco		Número relativo de átomos comparado con el de molibdeno
		mg/kg	%	
Molibdeno	MoO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,1	0,00001	1
Niquel	Ni <sup>2+</sup>	?	?	?
Cobre	Cu <sup>+</sup> , Cu <sup>2+</sup>	6	0,0006	100
Cinc	Zn <sup>2+</sup>	20	0,0020	300
Manganeso	Mn <sup>2+</sup>	50	0,0050	1 000
Boro	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	20	0,0020	2 000
Hierro	Fe <sup>3+</sup> , Fe <sup>2+</sup>	100	0,0100	2 000
Cloro	Cl <sup>-</sup>	100	0,0100	3 000
Azufre	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1000	0,1	30 000
Fósforo	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2000	0,2	60 000
Magnesio	Mg <sup>2+</sup>	2000	0,2	80 000
Calcio	Ca <sup>2+</sup>	5000	0,5	125 000
Potasio	K <sup>+</sup>	10000	1,0	250 000
Nitrógeno	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	15000	1,5	1 000 000
Oxígeno	O <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O	450000	45	30 000 000
Carbono	CO <sub>2</sub>	450000	45	35 000 000
Hidrógeno	H <sub>2</sub> O	60000	6	60 000 000

<sup>a</sup> En negritas se indica la más común de las dos formas.

Hay elementos esenciales que en ocasiones se clasifican funcionalmente en dos grupos: los que participan en la estructura de un compuesto importante, y los que tienen una función activadora de enzimas. No existe una distinción clara entre estas funciones, ya que varios elementos forman parte estructural de enzimas esenciales y ayudan a catalizar la reacción química en la participa la enzima.

Existe un rango de concentración óptima en el que la planta crece adecuadamente. Por sobre y por debajo de este rango, la planta ya no crece en condiciones adecuadas, al primero se le llama rango de toxicidad y al segundo rango de deficiencia. (Salisbury F., Ross C., 1994).

## 1. Funciones de los elementos

Dentro de lo que son metales pesados:

- **Zinc:** En bibliografía se describen efectos bajo la deficiencia de este metal, dentro de los cuales se tienen, hoja pequeña, márgenes foliares con distorsiones y pliegues, clorosis, lo que sugiere que este elemento o participa en la formación de la clorofila o impide su destrucción, retardo en el crecimiento del tallo, entre otros, y la participación en el contenido de enzimas que lo requieren como un elemento esencial. (Salisbury E., Ross C., 1994)

- **Cobre:** Debido a las cantidades tan pequeñas que necesitan las plantas de este elemento, el cobre se vuelve tóxico con rapidez (Salisbury F., Ross C., 1994). Se considera un rango tóxico para el crecimiento de las plantas entre 0,5 y 8,0 ppm (Truong, Paul N.V.; Claridge, Jeromy, 2000)

El cobre está presente en diversas enzimas y proteínas implicadas en los procesos de oxidación y reducción (Salisbury F., Ross C., 1994)

- **Níquel:** Aunque su esencialidad es descrita para ciertas especies se cree que se puede extender para todas las plantas, por su presencia en la ureasa (Salisbury F., Ross C., 1994).

A altas concentraciones es extremadamente tóxico. Se considera que un rango tóxico para el crecimiento de las plantas es entre 7 y 10 ppm y niveles tóxicos en el suelo entre 7,0 y 10,0 ppm (Truong, Paul N.V.; Claridge, Jeromy, 2000).

- **Arsénico:** Se considera que un rango tóxico para el crecimiento de las plantas es de 0,02 y 7,5 ppm, y niveles tóxicos en el suelo de 2,0 ppm (Truong, Paul N.V.; Claridge, Jeromy, 2000).

- **Cadmio:** Se considera que un rango tóxico para el crecimiento de las plantas es de 0,2 y 9,0 ppm y niveles tóxicos en el suelo de 15 ppm (Truong, Paul N.V.; Claridge, Jeromy, 2000).
- **Cromo:** Se considera que un rango tóxico para el crecimiento de las plantas es de 0,5 y 10,0 ppm (Truong, Paul NV.; Claridge, Jeromy, 2000). No hay información acerca de su esencialidad como nutriente.
- **Zinc:** Concentración en tejido seco, 20 mg/kg (según tabla 1).

Del plomo y del mercurio no se encontró más información que la que incluye a todos los metales pesados anteriormente mencionados.

Dentro de los que no son metales pesados:

- **Cloro:** Estimula la ruptura de la molécula de agua durante la fotosíntesis, esencial en las raíces para la división celular en las hojas, soluto osmóticamente activo (de importancia). No hay datos sobre su toxicidad.

Concentración en tejido seco, 100 mg/kg (Salisbury F., Ross C., 1994).

- **Cianuros:** Inhibe la respiración aerobia combinándose con el hierro de la citocromo oxidasa (Salisbury F., Ross C., 1994). No hay datos sobre niveles de toxicidad en suelo.

## 2. El problema del pH

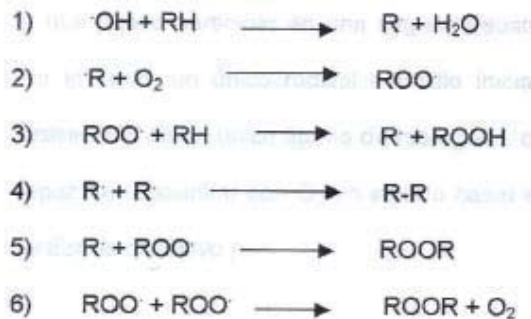
La absorción de nitrógeno como  $\text{NO}_2^-$ , se lleva a cabo a una velocidad tal que hay un incremento rápido en el pH de la solución nutritiva, debido a que la absorción de  $\text{NO}_3^-$  (y otros aniones) se acompaña de absorción de  $\text{H}^+$  o excreción de  $\text{OH}^-$  para mantener el balance de cargas. A valores elevados de pH el hierro y algunos otros elementos se precipitan con hidróxidos y dejan entonces de estar disponibles para las raíces. Este problema se puede minimizar proporcionando parte del nitrógeno como una sal de amonio ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , como en la solución de Hoagland) ya que la desorción de  $\text{NH}_4^+$  y otros cationes es simultánea a la absorción de  $\text{OH}^-$  o la transferencia de  $\text{H}^+$  de la raíz a la solución circundante. (Salisbury F., Ross 0., 1994)



### III. REACCIONES BIOLÓGICAS DE RADICALES DE OXÍGENO

#### 1. Daño oxidativo a lípidos

La peroxidación de lípidos incluye tres pasos: iniciación, propagación, terminación (*Curso de Estrés oxidativo*):



La reacción de iniciación entre un ácido graso insaturado y el radical hidroxilo involucra la sustracción de un átomo de hidrógeno de un grupo metilvinilo de un ácido graso (reacción 1) (*Curso de Estrés oxidativo*).

El carbono radical restante, forma una estructura resonante, compartiendo el electrón desapareado (*Curso de Estrés oxidativo*).

En las reacciones de propagación, esta estructura resonante reacciona con oxígeno triplete, el cual es un birradical que tiene dos electrones desapareados y por lo tanto reacciona rápidamente con otros radicales. Esta reacción forma un peroxi radical (reacción 2) (*Curso de Estrés oxidativo*).

El peroxi radical luego sustrae un átomo de hidrógeno de un segundo ácido graso formando un lípido hidroperóxido, quedando otro carbono radical libre (reacción 3) que puede participar en una segunda sustracción de hidrógeno (reacción 2). Por lo tanto, un único radical hidroxilo inicia la reacción de peroxidación por sustracción de un único

átomo de hidrógeno, que crea un carbono radical que es capaz de reaccionar con O<sub>2</sub> en estado basal en una reacción en cadena (*Curso de Estrés oxidativo*).

Las reacciones de peroxidación en lípidos de membrana son terminadas cuando el carbono o el peroxi radical se une para formar un producto conjugado que no es radical (reacciones 4-6), lo que da como producto aldehídos, hidrocarburos, alcoholes y dímeros ligados (*Curso de Estrés oxidativo*).

## **2. Daño oxidativo a proteínas**

El ataque oxidativo en proteínas da como resultado la modificación de aminoácidos en sitios específicos, fragmentación de péptidos, agregación de productos de reacción ligados, carga eléctrica alterada y susceptibilidad incrementada a la proteólisis (*Curso de Estrés oxidativo*).

El oxígeno activado puede sustraer un átomo de hidrógeno de residuos de cisteína para formar un radical tiilo que ligarla un segundo radical tiilo para formar puentes disulfuro. Alternativamente, el oxígeno puede adherirse a un residuo de metionina para formar derivados sulfóxidos de la metionina. La reducción de dos de estos puede ser realizado sistemas microbiales por tiorredoxina reductasa. Una proteína- metionina-S-oxido reductasa ha sido medida en cloroplastos de arveja. Esta enzima reduce el metionil sulfóxido volviéndolo a residuo metionil en presencia de tiorredoxina. En algunas ocasiones esta enzima ha reparado la actividad biológica de una proteína, pero esta función en plantas no ha sido descrita (*Curso de Estrés oxidativo*).

## **3. Daño oxidativo a DNA**

En forma general se tiene:

Degradación de bases, originando: 8-hidroxi guanina, hidroximetil urea, timina y anillos abiertos de adenina, entre otros (*Curso de Estrés oxidativo*).

Rompimiento de cadenas simples por la oxidación del azúcar debido al radical hidroxilo formando por la reacción de Fenton (*Curso de Estrés oxidativo*):



Unión de DNA a proteínas (Curso de Estrés oxidativo).

## IV. SITIOS DE PRODUCCIÓN DE OXÍGENO ACTIVADO

### 1. Cloroplastos

Hay al menos cuatro sitios dentro de los cloroplastos:

- a. El fotosistema I puede reducir el oxígeno por la reacción de Mehler el cual es un importante mecanismo de activación de oxígeno en el cloroplasto. El sitio reductor del fotosistema I se piensa contribuye significativamente a la reducción monovalente del oxígeno bajo condiciones donde NADP es limitante. Esto podría ocurrir, por ejemplo, si el ciclo de Calvin no oxida NADPH tan rápidamente como el fotosistema I supe los electrones (*Curso de Estrés oxidativo*).
- b. Normalmente la clorofila foto activada transfiere su energía de excitación al centro de reacción del fotosistema, pero bajo condiciones que impiden la captación de la energía lumínica para ser utilizada en el sistema de transporte de electrones, esta energía puede excitar el oxígeno desde la forma triplete a la forma singulete. Estas condiciones incluyen cierre de estomas causado por sequedad, daño al sistema de transporte de membrana, pérdida de nutrientes específicos, o la presencia de químicos xenobioticos tales como contaminantes o herbicidas (*Curso de Estrés oxidativo*).
- c. El lado oxidante del fotosistema II facilita la transferencia de cuatro electrones desde el agua al centro de reacción del fotosistema II liberando oxígeno triplete o en estado basal. La pérdida de electrones desde este sitio al oxígeno molecular, o la liberación de productos de oxígeno reducido parcialmente se piensa hace menor

contribución a la producción de oxígeno activado, pero ha sido demostrado que ciertos alcoholes pueden ser reducidos por el fotosistema II (*Curso de Estrés oxidativo*).

d. La fotorespiración es la más obvia vía de oxigenación en el cloroplasto. Rubisco catalisa la adición de oxígeno al carbono 2 de RuBP formando fosfoglicolato y fosfoglicerato. Aunque este no genera oxígeno activado en el cloroplasto, el metabolismo subsecuente de glicolato en el peroxisoma sí (*Curso de Estrés oxidativo*).

## **2. Mitocondria**

Mucho oxígeno es consumido por la enzima citocromo oxidasa en el sistema de transporte de electrones mitocondrial, e involucra la transferencia secuencial de cuatro electrones al oxígeno, liberando agua. La mitocondria de planta tiene un sitio adicional de reducción de oxígeno en la oxidasa alternativa, distinguida de la citocromo oxidasa por su resistencia a cianuro. Sin embargo, ninguno de estos sitios produce cantidades significativas de superóxido. Sin embargo, la mitocondria aislada produce  $H_2O_2$  y  $O_2$  en presencia de NADPH. Antimicina A, la cual bloquea el flujo de electrones después de la ubiquinona, incrementa la reducción de oxígeno. Presumiblemente otras condiciones las cuales también incrementan la reducción de ubiquinona favorece la reducción de oxígeno en la ubiquinona A de la región del citocromo b de la cadena. Las varias proteínas Fe-S y NADH deshidrogenasa han sido también implicadas como posibles sitios de formación de superóxido y peróxido de hidrógeno (*Curso de Estrés oxidativo*).

## **3. Retículo endoplásmico**

Varios procesos oxidativos, que incluyen oxidación hidroxilación, dealquilación deaminación, dehalogenación y desaturación ocurren en el retículo endoplásmico liso. Funciones conjuntas de oxigenasas que contienen un motivo heme adhieren un átomo dentro de un sustrato orgánico usando NAD(P)H como donador de electrones. La reacción generalizada catalizada por el citocromo P<sub>450</sub> es (*Curso de Estrés oxidativo*):



El mejor caracterizado citocromo P<sub>450</sub> en plantas es el cianamato-4-hidroxilasa el cual funciona en la biosíntesis de flavonoide y lignina, pero otras acciones conjuntas de oxidasas funcionan en otras vías bioquímicas que incluyen la biosíntesis de giberelina y esterol. La cativación de oxígeno por estos sistemas es un prerequisite esencial para las reacciones de adición de oxígeno en la síntesis de estos metabolitos complejos. El superóxido es producido por Transporte de electrones dependiente de NAD(P)H microsomal que incluye citocromo P<sub>450</sub>, Un posible sitio en el cual esto puede *ocurrir* es mostrado en la siguiente figura. Luego de la reducción univalente del sustrato (RH) y la adición de oxígeno triplete para formar el complejo P<sub>450</sub>-RHOO el complejo puede descomponerse a P<sub>450</sub>-RH y liberar superóxido (*Curso de Estrés oxidativo*).

#### 4. Microcuerpos

Los peroxisomas y glioxisomas son organelos con una membrana simple que compartimentaliza enzimas involucradas en la β-oxidación de ácidos grasos, y el ciclo del ácido glioxílico que incluye glicolato oxidasa, catalasa y varias peroxidasas. Glicolato oxidasa produce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en dos transferencias de electrones desde glicolato a oxígeno. Xantina oxidasa, urato oxidasa y NADH oxidasa genera superóxido como una consecuencia de la oxidación de sus sustratos. La reacción de xantina oxidasa es frecuentemente usada *in vitro* como una fuente de superóxido produciendo un mal de superóxido durante la conversión de xantina a ácido úrico (*Curso de Estrés oxidativo*).

#### 5. Membrana plasmática

Una actividad NAD(P)H oxidasa generadora de superóxido ha sido claramente identificada en la fracción enriquecida de la membrana plasmática. Estas flavoproteínas pueden producir superóxido por el ciclo redox de ciertas quinonas o compuestos nitrogenados. En la raíz, NAD(P)H oxidasa reduce Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup> convirtiéndolo a una forma que puede ser transportada. Disfunciones de esta enzima de raíz produciría

superóxido. Una NADH oxidasa activadora de auxina ha sido asociado con acidificación de la pared celular y elongación celular estimulada por auxina (*Curso de Estrés oxidativo*).

La NAD(P)H oxidasa puede tener una función análoga a la enzima animal. Los leucocitos contienen una NADH oxidasa en la superficie de la membrana externa la cual es activada en respuesta a un agente externo, generando superóxido que inicia reacciones oxidativas que destruyen el potencial patógeno. En plantas, los hongos causan una similar formación de superóxido que ha sido ligada a la respuesta hipersensible a algunas hongos patógenos. Las heridas, shock por calor y transitorios xenobióticos activan esta reacción generadora de superóxido, y consecuentemente, se propone que esta reacción generadora de superóxido puede servir como una señal en las células de las plantas para producir respuesta a estrés biológico, físico o químico (*Curso de Estrés oxidativo*).

## **6. Pared celular**

Aunque no es inmediatamente obvio, las paredes celulares tienen sitios activos de metabolismo, puede también activar oxígeno. Algunas de estas reacciones pueden ser incluidas en las reacciones de defensa contra patógenos como descrito antes. Otros pueden involucrar la degradación o compartimentalización de químicos xenobióticos, Sin embargo, las reacciones más comunes son biosintéticas. Por ejemplo, los precursores fenilpropanoides de lignina son ligados por reacciones dependientes de  $H_2O_2$ , que casualmente unen las subunidades para formar lignina. El NADH es generado por una malato deshidrogenasa de pared celular, y luego usado para formar  $H_2O_2$ , posiblemente por la NADH oxidasa en la membrana plasmática. La diamina oxidasa es también involucrada en la producción de oxígeno activado en la pared celular usando diaminas y poliaminas (putrescina, espermidina, cadaverina, etc) para reducir una quinona de autooxidará, formando peróxidos (*Curso de Estrés oxidativo*).

## V. BOTÁNICA DEL PEUMO. PIMIENTO Y MOLLE

### 1. Peumo

*Cryptocarya alba* (Mol.) Looser Lauráceas. Dicot.

DISTRIBUCIÓN: Desde el sur de la región de Coquimbo hasta la provincia de Valdivia, tanto en la cordillera de la Costa como en la de los Andes. Más abundante en la Zona Central de Chile que al sur de su área de distribución.

HABITAT: En la región céntrica prefiere los lugares húmedos y sombríos, principalmente fondos de quebradas, donde forma bosquecillos casi puros. Hacia el sur busca las localidades más secas. En esta zona se asocia básicamente con robles y lingües.

Árbol siempreverde, con follaje denso, de 4 a 20 m. de altura y 1 m de diámetro en su tronco. La corteza es de color pardo grisáceo, lisa, en algunas ocasiones un tanto agrietada y arrugada.

Hojas opuestas o alternas, de 5 a 8 cm. de largo por 5 de ancho, ovales o aovadas, con borde entero, un poco ondulado; blanquecinas en el envés y verde brillante en la cara superior. Contienen abundantes aceites esenciales, despidiendo un olor agradable cuando se rompen.

Flores en panojas o racimos axilares, cada una de 3 a 4 cm. de longitud; 6 a 9 tápalos, y estambres numerosos.

Floración: de Noviembre a Enero.

Fruto: una drupa ovalada roja. de 1 a 2 cm. de largo.

Origen: chileno.

USOS: Medicinal (antirreumático y enfermedades del hígado). La corteza produce taninos para curtir. Frutos comestibles. Madera dura y resistente, apta para leña y carbón.

La madera de esta especie, dura y muy resistente al agua se emplea con frecuencia en la fabricación de tacos de zapatos y piezas de carretas. También es muy explotada como leña.

Su corteza, rica en taninos, se usa en curtidurías. Sirve además para teñir el cuero (color anaranjado).

El fruto es comestible (Hoffman U., Adriana, 1998).

## **2. Molle**

*Schinus molle* (L.) Engler Anacardiáceas. Dicot.

HABITAT: Faldas soleadas de los cerros, sobre todo cerca del mar, entre Coquimbo y Concepción. Especie frecuente.

Árbol o arbusto siempreverde. de 1 a 2,5 m. de altura. Hojas alternas, pecioladas, de 3 a 7 cm. de largo, ovaladas, con borde aserrado y la nervadura muy marcada. Flores de 2 a 3 mm. de diámetro, en racimos terminales y axilares. Cáliz de 4 divisiones, 4 pétalos caducos. Las flores masculinas, con 10 estambres en dos series.

Floración: septiembre a octubre.

Fruto: una drupa globosa, de 3 a 4 mm. de diámetro.

Origen: Argentina y Chile (Hoffman U., Adriana, 1997)



### **3. Pimiento**

Molle, pimiento, pimentero, pimentero del Perú, pimentero de Bolivia.

SCHINUS MOLLE L. Fam.: Anacardáceas.

El nombre deriva de la palabra griega “schinos”, que se usaba para denominar al lentisco (*Pistacea lentiscus*), semejante al molle, por lo resinoso. “Molle”: denominación indígena de este árbol.

El molle es originario del Perú. Se trata de la primera especie introducida en Chile. Fue traído por los incas, quienes lo veneraban grandemente; con él decoraban el “caminaban del inca y los tambos. En nuestro país tiene buenas condiciones para su crecimiento, especialmente en las zonas norte y central. Se lo cultivó con profusión en el desierto, sobre todo en las oficinas salitreras y pequeños valles transversales.

DESCRIPCIÓN: Hermoso árbol de follaje siempre verde, donde la combinación de tronco y ramas gruesas y nudosas con ramas ramillas colgantes, ala manera de un sauce llorón, resulta muy atractiva, Puede alcanzar 10-15 m de altura, con una copa muy ancha. La corteza es rugosa y de tono gris oscuro.

Las flores se hallan agrupadas en panículas ramificadas de color amarillo-verdoso.

Fruto: una pequeña drupa que madura en el otoño y permanece largo tiempo colgada del árbol, en racimos densos; de tono rozado, tiene, al igual que todo el resto de la planta, un intenso olor picante y perfumado. Este fruto es muy semejante al del verdadero pimentero, *Piper nigrum*, que se usa como condimento.

Es de crecimiento bastante rápido: en sólo 20 años puede alcanzar su envergadura máxima.

No demasiado exigente en cuanto a suelos, teme las heladas, pero es muy resistente a la sequía. Soporta bien la poda, rebrotando con facilidad.

USOS: Aparte de su valor ornamental, abundantemente empleado en programas de áreas desérticas. En el norte de Chile se lo planta para dar a los animales, obtener leña, sombrear caminos, etc. No se presta mucho para las calles, ya que se ramifica desde muy abajo (Hoffman J., Adriana, 1983).

#### **4. Acerca de las tres especies.**

Estas tres especies pertenecen a lo que se llama el bosque esclerófilo, cuya característica es la abundancia de arbustos altos y árboles. Se extiende generalmente por las laderas de ambas cordilleras, destacando una composición variable de acuerdo con el patrón de exposiciones a la radiación solar.

Dentro de este tipo de bosque se encuentra una subclasificación que es la costera. Las características más destacables son la distribución de las especies en un sector costero montañoso y en las laderas occidentales de la Cordillera de la Costa, lo que corresponde, en la zona central del país, a condiciones ambientales muy favorables.

A su vez, encontramos una sub-subclasificación, que es según la especie que compone tal bosque:

Bosque que se distribuye de una manera muy local, siendo su presencia muy escasa. Se encuentra junto al cauce de quebradas con agua corriente y en las laderas de exposición al sur muy húmedas. Aquí encontramos como especie representativa al Peumo y como especie acompañante al Molle.

Bosque que se encuentra repartido especialmente en quebradas húmedas y laderas sombrías. Aquí encontramos como especies representativas, al Peumo y al Molle.

Bosques que, en general presentan la característica de estar en quebradas junto a cursos de agua, y generalmente se encuentra el Peumo (Gajardo, Rodolfo, 1995).

## **VI. EVOLUCIÓN DE LA GESTIÓN DE RESIDUOS SÓLIDOS**

El término residuo sólido comprende tanto la masa heterogénea de los desechos de la comunidad urbana como la acumulación más homogénea de los residuos agrícolas, industriales y minerales.

## **1. Un poco de historia**

Desde los días de la sociedad primitiva, los seres humanos y los animales han utilizado los recursos de la tierra para la supervivencia y la evacuación de residuos. En tiempos remotos, la evacuación de los residuos humanos -y otros-no planteaba un problema significativo, ya que la población era pequeña y la cantidad de terreno disponible para la asimilación de los residuos era grande.

Los problemas de la evacuación de residuos pueden ser trazados desde los tiempos en los que los seres humanos comenzaron a congregarse en tribus, aldeas y comunidades, y la asimilación de residuos llegó a ser una consecuencia de la vida.

Con el desarrollo de una sociedad tecnológica, que se remonta a los principios de la Revolución Industrial, también se incrementan los problemas de la evacuación de los residuos sólidos.

Para comprender la naturaleza de estos problemas es útil examinar el flujo de materiales y la generación de residuos asociados, en una sociedad tecnológica, y considerar el impacto directo de los adelantos tecnológicos en el diseño de las instalaciones de residuos sólidos.

Dentro de lo que es el flujo de materiales y generación de residuos, se hace claro que una de las mejores maneras de reducir la cantidad de residuos sólidos que tienen que ser evacuados es limitar el consumo de materias primas e incrementar la tasa de recuperación y reutilización de materiales residuales.

Los modernos adelantos tecnológicos en el embalaje de bienes crean una serie constantemente cambiante de parámetros para el diseñador de instalaciones de residuos sólidos. De especial importancia son el incremento del uso de plásticos y el consumo de comidas congeladas, que reducen la cantidad de residuos de comida en la casa, pero incrementan las cantidades, en las plantas agrícolas de procesamiento.

Todas las técnicas de predicción disponibles deben ser usadas en esta sociedad tecnológica en continua evolución, para que la flexibilidad y la utilidad puedan ser incorporadas a los diseños de las instalaciones para el procesamiento de residuos sólidos (Tchobanoglous, G.; et al, 1994).

## **2. Desarrollo de la gestión de residuos sólidos**

La gestión de residuos sólidos puede ser definida como la disciplina asociada al control de la generación, almacenamiento, recogida, transferencia y transporte, procesamiento y evacuación de residuos sólidos de una forma que armoniza con los mejores principios de la salud pública, de la economía de la ingeniería, de la conservación, de la estética, y de otras consideraciones ambientales, y que también responde a las expectativas públicas.

En la historia, muchos de los principios básicos y de los métodos subyacentes de lo que hoy conocemos como el campo de la gestión de residuos sólidos fueron bien conocidos ya a principios de siglo.

Dentro de los elementos funcionales de un sistema de gestión de residuos se destacan ciertas actividades asociadas, que incluyen desde el punto de generación hasta la evacuación final, lo que se agrupa en seis elementos funcionales; 1) generación de residuos; 2) manipulación y separación de residuos, almacenamiento y procesamiento en origen; 3) recogida; 4) separación y procesamiento y transformación de residuos sólidos; 5) transferencia y transporte; 6) evacuación (Tchobanoglous, G.; et al, 1994).

## **3. Gestión integral de residuos sólidos**

Cuando todos los elementos funcionales han sido evaluados para su uso, y todos los contactos y conexiones entre elementos han sido agrupados para una mayor eficacia y rentabilidad, entonces la comunidad ha desarrollado un sistema integral de gestión de residuos. En este contexto, la gestión integral de residuos sólidos (GIRS) puede ser definida como la selección y aplicación de técnicas, tecnologías y programas de gestión idóneos para lograr metas y objetivos específicos de gestión de residuos.

Puede utilizarse una jerarquía (organización por orden de rango) en la gestión de residuos para clasificar las acciones en la implantación de programas dentro de la comunidad. La jerarquía de GIRS adoptada por la agencia de protección ambiental en USA (EPA) está formada por los siguientes elementos: reducción en origen, reciclaje, incineración de residuos, y vertido. La jerarquía de GIRS utilizada según

(Tchobanoglous, G.; Theisen, H.; Vigil, S.A. En *Gestión Integral de Residuos Sólidos, 1994*), es reducción en origen, reciclaje, transformación de residuos y vertido. El término transformación de residuos sustituye al término de EPA (USA) incineración, que es demasiado limitado

Dentro de lo que es la planificación para la gestión integral de residuos sólidos, es conveniente tener en cuenta la combinación correcta de tecnologías, la flexibilidad a la hora de afrontar los cambios futuros, y la necesidad de la supervisión y de la evaluación (Tchobanoglous, G.; et al, 1994).

#### **4. Operación de sistemas de gestión de residuos sólidos**

Además de cumplir con los requisitos asociados a la GIRS, también tienen que ser abordados otros asuntos de gestión para la operación de los sistemas de GIRS. El administrador de residuos sólidos debe conocer estas cuestiones de gestión o asumir un alto riesgo de fracaso en la implantación de programas de gestión de residuos sólidos,

Dentro de los puntos a considerar se tienen aplicación de normativas reguladoras operativas protectoras, mejora de métodos científicos para la interpretación de datos, identificación de productos de consumo peligrosos y tóxicos que requieren unidades especiales para la gestión de residuos, financiamiento de infraestructura de gestión de residuos, planificación urbana y ubicación de unidades de gestión de residuos en los grandes centros urbanos, establecimiento y mantenimiento de gestores más cualificados para desarrollar y controlar unidades de gestión de residuos.

La necesidad de la reducción en origen, de la reutilización y del reciclaje de materiales recuperados, lleva a plantear retos futuros, tales como los hábitos cambiantes de consumo en la sociedad, la reducción del volumen de residuos en origen, hacer más seguros los vertederos, desarrollar nuevas tecnologías (Tchobanoglous, G.; et al, 1994).

## **VII. LÍQUIDO PERCOLADO O LIXIVIADO**

Se puede definir el líquido lixiviado como el líquido que se filtra a través de los residuos sólidos y que extrae materiales disueltos o en suspensión. En la mayoría de los

vertederos el lixiviado está formado por el líquido que entra en el vertedero desde fuentes externas (drenaje superficial, lluvia, aguas subterráneas, aguas de manantiales subterráneos), y en su caso el líquido producido por la descomposición de los residuos, si hay.

Al filtrarse el agua a través de los residuos sólidos en descomposición, se lixivian en solución materiales biológicos y constituyentes químicos. En la Tabla 1 se presentan datos representativos sobre las características de los lixiviados en vertederos nuevos y antiguos. Como el rango de los valores de concentración observados para varios constituyentes presentados en la Tabla 1 es bastante grande! especialmente en vertederos nuevos, se debe tener mucho cuidado en la utilización de los diversos valores que se representan. En la Tabla 2 se resumen los parámetros físicos, químicos y biológicos a supervisar (Tchobanoglous, G.; et al, 1994).

TABLA 2 Datos típicos sobre la composición de los lixiviados procedentes de vertederos nuevos y maduros<sup>a</sup>

---

<sup>a</sup> Desarrollado de Referencias que le competen al texto consultado (ver nº7 de BIBLIOGRAFÍA).

Dureza total como		Valor mg/l <sup>b</sup>	
CaCO <sub>3</sub>		Vertedero nuevo (menos de 2 años)	
		200-500	
Constituyentes	Rango <sup>c</sup>	Típico <sup>d</sup>	Vertedero maduro (mayor de 10 años)
DOB <sub>5</sub> (demanda de oxígeno bioquímico de 5 días)	2.000-30.000	10.000	100-200
COT (carbono orgánico total)	1.500-20.000	6.000	80-160
DOC (demanda de oxígeno químico)	3.000-60.000	18.000	100-500
Total de sólidos en suspensión	200-2.000	500	100-400
Nitrógeno orgánico	10-800	200	80-120
Nitrógeno amoniacal	10-800	200	20-40
Nitrato	5-40	25	5-10
Total fósforo	5-100	30	5-10
Ortofosfato	4-80	20	4-8
Alcalinidad como CaCO <sub>3</sub>	1.000-10.000	3.000	200-1.000
PH	4,5-7,5	6	6,6-7,5
Dureza total como CaCO <sub>3</sub>	300-10.000	3.500	200-500
Calcio	200-3.000	1.000	100-400
Magnesio	50-1.500	250	50-200
Potasio	200-1.000	300	50-400
Sodio	200-2.500	500	100-200
Cloro	200-3.000	500	100-400
Sulfatos	50-1.000	300	20-50
Total hierro	50-1.200	60	20-200

<sup>b</sup>: Excepto el pH, que no tiene unidades.

<sup>c</sup>: Rango representativo de valores. Se han representado en la literatura del tema valores máximos más altos para algunos de los constituyentes..

<sup>d</sup>: Los valores típicos para los vertederos nuevos variarán según el estado metabólico del vertedero.

Tabla 3 Parámetros de muestreo de los lixiviado<sup>a</sup>



Físicos	Constituyentes orgánicos	Constituyentes inorgánicos	Biológicos
Aspecto	Químicos orgánicos	Sólidos en suspensión (SS), sólidos totales disueltos (STD)	Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)
pH	Fenoles	Sólidos volátiles en suspensión (SVS), sólidos volátiles disueltos (SVD)	Bacterias coliformes (total, fecal, fecal estreptococo)
Potencial de reducción oxidación	Demanda química de oxígeno (DQO)	Cloruros	Recuento sobre placas estándar.
Conductividad	Carbono orgánico total (COT)	Sulfatos	
Color	Ácidos volátiles	Fosfatos	
Turbiedad	Taninos, ligninas	Alcalinidad y acidez	
Temperatura	N-orgánico	N-Nitrato	
Olor	Solubles en éter (aceite y grasa)	N-Nitrito	
	Sustancias activas al azul de metileno (SAAM)	N-Amónico	
	Grupos funcionales orgánicos según sean requeridos	Sodio	
	Hidrocarburos clorados	Potasio	
		Calcio	
		Magnesio	
		Dureza	
		Metales pesados (Pb, Cu, Ni, Cr, Zn, Cd, Fe, Mn, Hg, Ba, Ag)	
		Arsénico	
		Cianuro	
		Flúor	
		Selenio	

\* Adaptado de Referencia 44 del texto consultado (ver N° 7 de BIBLIOGRAFIA)

Hay que resaltar que la composición química de los lixiviados variará mucho según la antigüedad de vertedero y la historia previa al momento de muestreo. Por ejemplo, si se recoge una muestra de los lixiviados durante la fase ácida de la descomposición, el pH será bajo y las concentraciones de DBO<sub>5</sub>, COT, DQO, nutrientes y metales pesados serán altos. Por otro lado, si se recoge una muestra de los lixiviados durante la fase de fermentación del metano, el pH está dentro del rango de 6,5 a 7,5, y los valores de concentración de DBO<sub>5</sub>, COT, DQO y de los nutrientes serán más bajos. Similarmente, serán más bajas las concentraciones de metales pesados porque la mayoría de los metales son menos solubles para valores de pH neutros. El pH del lixiviado dependerá no solamente de la concentración de los ácidos que están presentes, sino también de la presión parcial del CO<sub>2</sub> en el gas de vertedero que está en contacto con el lixiviado.

La biodegradabilidad del lixiviado variará con el tiempo. Se pueden supervisar los cambios en la biodegradabilidad del lixiviado mediante el control de la relación de DBO<sub>5</sub>/DQO. Inicialmente, las relaciones estarán en el rango de 0,5 o más. Las relaciones en el rango de 0,4 a 0,6 se toman como un indicador de que la materia orgánica en los lixiviados es fácilmente biodegradable. En los vertederos antiguos, la relación de DBO<sub>5</sub>/DQO está a menudo en el rango de 0,05 a 0,2. La relación cae porque los lixiviados procedentes de vertederos antiguos normalmente contienen ácidos húmicos y fúlvicos, que no son fácilmente biodegradables.

Como resultado de la diversidad en las características del lixiviado, el diseño de los sistemas de tratamiento del lixiviado es complicado. Por ejemplo, una planta de tratamiento diseñada para tratar un lixiviado con las características presentadas por un vertedero nuevo sería bastante diferente de una diseñada para tratar el lixiviado procedente de un vertedero antiguo. El problema de interpretación de los resultados analíticos es todavía más complicado, por el hecho de que el lixiviado que está generándose en un momento dado es una mezcla del lixiviado derivado de residuos sólidos de distintas edades.

La presencia de oligocompuestos (algunos de los cuales pueden plantear riesgos para la salud) en el lixiviado dependerá de la concentración de estos compuestos en la fase gas dentro del vertedero. Al mismo tiempo que las comunidades y los operadores de

vertederos implantan programas que limitan la evacuación de residuos sólidos mezclados procedentes de los RSU, la calidad del lixiviado procedente de los nuevos vertederos está mejorando respecto a la presencia de oligoconstituyentes (Tchobanoglous, G.; et al, 1994).

## **VIII. EXPERIENCIAS DE REINSERCIÓN DE VERTEDEROS MEDIANTE LA IMPLANTACIÓN DE UNA CUBIERTA VEGETAL**

Sabiendo que la etapa final de un vertedero o relleno sanitario posterior al cierre, es la que corresponde a su re inserción, que es donde se desarrollan las faenas destinadas a reincorporar el relleno sanitario ya sellado a su entorno, controlando las emisiones de biogás, líquidos lixiviados, y los problemas que puedan causar los asentamientos entre otros, de manera que se impida causar impactos negativos al ambiente y la salud. En esta etapa se debe terminar de implementar las instalaciones de monitoreo, emplazadas en la etapa de sellado, que sean necesarias para controlar que sea causa de contaminación de aire, suelo o agua. La re inserción, habitualmente tiene algunas de las siguientes alternativas de destino: agrícola, recreacional, y/o apoyo a algún tipo de estructuras (Olaeta C., José A.; et al, 1999).

### **1. Experiencias internacionales**

Ya en 1972 se indica el éxito en la habilitación de canchas de golf y jardines sobre rellenos sanitarios usando además especies arbóreas para completar el paisaje.

El ministerio del Ambiente y Calidad de Vida de Francia (1985) plantea la importancia de ocupar los rellenos sanitarios acabados en parques o campos productivos, para lo cual señala una serie de posibilidades de especies tanto arbóreas como herbáceas, las cuales podrían adaptarse a las condiciones de suelo que posee un relleno sanitario, esto es, delgada capa de suelo, alta concentración de gases como CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>, alto contenido de metales pesados entre otros. Los autores señalan también que es necesario poblar primero con especies llamadas “pioneras”, las cuales soportan condiciones adversas, y

tienen un crecimiento más rápido, creando así un microclima para que se puedan desarrollar posteriormente especies denominadas “nobles”. Como especies arbóreas primarias, se señalan *Populus sp.*, *Betulus alba* y *Salix alba*.

Se definen ciertas especies como resistentes a la baja tensión de oxígeno en las raíces, indicando que probablemente el tamaño de las plantas al momento de ser plantadas podría influir en la adaptación inicial a las condiciones de baja tensión en el medio.

Estudios realizados en Argentina señalan una adecuada mezcla de especies pratenses.

En la publicación de la Comisión de Comunidades Europeas (1992) también señalan algunas especies como posibles de usar en un vertedero sanitario.

En Portugal se reporta, la recuperación de un vertedero municipal no controlado ubicado en una vieja mina de caolín, el que se utiliza hoy como lugar de recreación y servicios de la población de Viana do Castelo, al construir allí estacionamientos, lavado de automóviles, tiendas y una laguna artificial.

En Kearney (Nebraska) se han sembrado canchales rellenos de residuos, con alfalfa, siendo suficientes para ello unos 60 cm de recubrimiento final.

En Inglaterra, se han utilizado también algunos terrenos provenientes de rellenos sanitarios, para fines agrícolas-forestales.

Pocas referencias hay en cuanto a los efectos que puede producir en la vegetación el medio agresivo que representa un relleno de residuos sólidos y particularmente los niveles de toxicidad que se pueden producir en las plantas. Se ha publicado que un aumento de la absorción de metales pesados como Plomo, Cobalto, Níquel, Cromo y otros, provocarían toxicidad en las plantas entrando a la cadena alimentaria afectando a hombres y animales. Un elevado tenor de metales pesados en un vertedero sanitario en Finlandia y se encuentran en una muestra del vertedero Foxhall, en Inglaterra, altos niveles de cloro, amonio a diferentes profundidades del vertedero.

De lo anteriormente expuesto se desprende la limitación del destino agrícola que tendría un relleno sanitario, ya que las soluciones para reinsertar estas áreas, necesariamente deben ser económicas y no implicar riesgos para el ambiente y la salud pública. Sin

embargo el uso forestal no presenta limitaciones en ese sentido pues su utilización no implica un deterioro en la salud humana.

Se destaca como importante la consideración del espesor de la cubierta final donde se desarrollarán las especies vegetales. Se estima que un espesor de 50-60 cm sería suficiente para vegetación pratense y 70-80 cm para la arbustiva.

Se reporta, que las especies vegetales presentan un menor desarrollo radical a medida que la profundidad aumenta debido a que en un vertedero, las condiciones adversas se incrementan en profundidad. Por otro lado, se observa que especies cultivadas en el vertedero en sectores cubiertos con capas de suelo de diferente espesor, donde el suelo fue más profundo (30 cm) la modalidad de las especies fue menor, como también mayor cantidad de biomasa desarrollada (Olaeta C., José A.; et al, 1999).

## **2. Experiencias nacionales**

Vertedero experimental de Limache, experiencia realizada por el grupo de trabajo de la Universidad Católica de Valparaíso. Los parámetros tomados en cuenta, entre otros, fueron la selección de sitios en el vertedero de tal forma que hubieran distintas especies y condiciones ecológicas encontradas, como distintas etapas del relleno sanitario; la época de selección de los sitios; elección de especies a evaluar; características del suelo en el vertedero tales como, morfológicas, físicas y químicas, del perfil de suelo; evolución de la vegetación introducida en el vertedero tales como, evaluación del número de árboles por especie, del crecimiento de las especies a través del jargo y número de brotes.

Vertedero de la localidad de Papudo, donde se reporta la forestación con eucaliptos, sin prácticamente nada de mantención y en condiciones de aridez, siendo muy altos los resultados alcanzados de sobre vivencia de las especies.

Relleno sanitario Lo Errázuriz donde se destaca el desarrollo por tramos paralelo al avance que experimentara la obra.

Relleno sanitario La Feria, uno de los mejores ejemplos tanto en el ámbito nacional como iberoamericano. Finalizada la primera etapa que permitió la construcción de un

gran parque de 11,7 Há, llamado Parque André Jarlán. Es destacable la mención de los factores que atentan contra algunas especies ubicadas en determinados sectores del parque, entre otras:

- Drenaje de las aguas superficiales hacia las calles aledañas en las zonas bajas y llanas de Parque, lo que no es adecuado debido a la variación en las pendientes del terreno, que se produce por los asentamientos que sufre en forma natural el relleno de residuos sólidos.
- La heterogeneidad y granulometría de los residuos, especialmente aquellos de la construcción que están depositados, provocaría la existencia de zonas en las cuales el gas no migraría a través de las chimeneas de drenaje y por tanto fluiría por áreas en las que podría afectar algunas especies vegetales.
- En el caso de las especies arbóreas que están en áreas cercanas a alguna chimenea de drenaje de biogás, la temperatura de combustión del mismo, y las emisiones de gas, afectan la vida de tales especies.
- Especies, que implantadas en zonas en las que el suelo se satura con facilidad ya sea por riego o por precipitaciones, no se consolidaron, se cree, por falta de oxígeno en las raíces.
- Especies, que no tienen un adecuado desarrollo debido a que precisan un mayor volumen de suelo de calidad para el desarrollo radicular. Lo que se agrega a condicionantes como la heterogeneidad en calidad de tamaño de los materiales dispuestos como escombros o lodos, que representan condiciones agresivas para el desarrollo radicular.
- Se postula la calidad del agua de riego como posible factor que afectaría el desarrollo de algunas especies.
- Aplicación excesiva de fertilizantes que podría afectar el desarrollo de algunas especies.
- La posible conjugación de algunas de las causas antes mencionadas y que dificultarían el desarrollo de algunas especies (Olaeta C., José A.; et al, 1999).

## **IX. ANTECEDENTES DEL VERTEDERO LAJARILLA**

### **1. Datos generales**

El terreno pertenece a la Comuna de Con Con, pero el actual relleno está bajo la responsabilidad de la 1. Municipalidad de Viña del Mar. El área en la cual se han colocado residuos es de aproximadamente 7,1 Há, el terreno está ubicado a la altura del km 10.7 de la ruta 60, por el antiguo camino a Colmo. El vertedero se encuentra colindando con el aeropuerto Viña del Mar y las instalaciones aeronavales de la Armada de Chile. Su ubicación corresponde a las coordenadas UTM (norte, 269; este 6350). El relleno sanitario actualmente es operado por una empresa privada.

### **2. Historia de la instalación**

La operación del relleno comenzó en el año 1985, reemplazando al antiguo botadero que existía al costado del actual relleno. Siendo este relleno el comienzo de manejo adecuado de los residuos en la comuna de Viña del Mar.

### **3. Clima**

Corresponde al tipo mediterráneo en el cual se diferencian claramente las estaciones de verano, otoño, invierno y primavera. La temperatura media es de 14,4°C con una máxima en verano de 27°C y una mínima cercana a los 0°C.

### **4. Hidrogeología**

La hidrología del área en estudio está compuesta por una serie de quebradas con pendientes más bien suaves, que son colectadas principalmente por el río Aconcagua. En general, se trata de un conjunto de quebradas que sólo son funcionales por breves períodos, especialmente en invierno. La carencia de aguas superficiales se explica, además de la semiaridez del clima, por la gran permeabilidad del terreno y por la

fracturación de las rocas del basamento, todo lo cual contribuye a reducir los montos de aguas superficiales.

Se aprecia la existencia de varios pozos, de los cuales se extrae agua para cubrir las necesidades de los habitantes del sector, además de detectar variada vegetación en el cerro, lo que evidencia la existencia de aguas subterráneas. Estas aguas bajan desde el cerro Torquemada, y continúan su descenso por las diferentes quebradas que se encuentran en el sector, entre las que se encuentra el área en estudio. Se estima que la productividad de los pozos existentes en el lugar es de media a baja, con generaciones de 0,13 a 1 m<sup>3</sup>/h/m.

## **5. Topografía**

El terreno está ubicado a los pies del cerro Torquemada de unos 250 m, finalizando en una quebrada que dio origen el vertedero. En las cercanías se encuentra un curso de agua correspondiente al estero Lalaja.

El relleno presenta unas zanjas que lo protegen de las aguas superficiales que pudiesen venir desde los contornos. El agua dentro del relleno es escurrida en dirección de las quebradas, la que desemboca en el estero. La Cantera que desemboca finalmente en el río Aconcagua.

## **6. Operación**

Se reciben residuos provenientes de Viña del Mar, Reñaca y Con-Con, recogidos a través de un sistema mixto de recolección entre la municipalidad y privados.

Los residuos sólidos que se depositan en el relleno sanitario son de origen doméstico, municipal, hospitalarios, e industriales asimilables a urbanos.

El material de cobertura es extraído desde el mismo terreno, no existiendo en cantidad suficiente, consecuencia de esto es de estimar la vida útil más prolongada, importando cobertura.



## 7. Control del lixiviado

En época de verano no se observan los lixiviados, sin embargo, estos aparecen en la base del vertedero para posteriormente infiltrar en el mismo terreno. Durante la saturación de la masa de vertido, en periodo en que la pluviometría es mayor, se observa que los líquidos percolados escurren aguas abajo, reinsertándose en la cuenca la cual se encuentran con residuos sólidos parte de estabilizados.

## 8. Análisis químico de las aguas percoladas del vertedero Lajarilla (Universidad de Valparaíso, 1999).

Tabla 4 Análisis químico de aguas percoladas del vertedero Lajarilla.

Parámetro	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto4
Arsénico (mg/l)	0,0273	0,0572	0,0341	0,0186
Cadmio (mg/l)	0,103	0,113	0,062	0,083
Cobre (mg/l)	0,247	1,04	0,124	0,124
Cromo (mg/l)	0,50	0,50	0,348	0,75
Mercurio (mg/l)	0,0037	0,0271	0,0161	0,0114
Níquel (mg/l)	0,63	0,52	0,315	0,286
Plomo (mg/l)	0,605	0,510	0,372	0,510
Zinc (mg/l)	0,56	0,63	0,25	0,244
Cloruros (mg/l)	4,05	5,47	0,896	1,24
Cianuros (mg/l)	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Aceites y grasas (mg/l)	20,8	14,4	13,6	9,0

## 9. Control de Gases

No existe un control adecuado de gases. Ante las recomendaciones de ventilar el vertedero se colocaron chimeneas, las cuales se pueden considerar superficiales pues no tienen gran profundidad. Muchas de las chimeneas que se construyeron desde la base del vertedero se han perdido bajo el relleno debido a lo discontinuado de su

construcción y a la destrucción de estas por parte de la maquinaria. Por la forma de explotación del vertedero y por la altura alcanzada, el biogás migra ante los grandes frentes de trabajo y por la base que no se encuentra impermeabilizada.

## **10. Control de agua subterránea**

El vertedero no cuenta con un adecuado monitoreo que permita detectar la fuga de lixiviados.

## **11. Composición de los residuos de la ciudad de Viña del Mar**

Se observa un alto predominio de la fracción de alimento. La fracción papel y cartón es baja, la de plástico es alta, la textil es baja, la de vidrio y metales es alta, lo que favorece el reciclamiento.

## **12. Caracterización física del sustrato**

Se seleccionó un sitio con material de vertido reciente.

Sector 1: Material ripio (hasta los 15-20 cm), suelo de consistencia dura en seco. Zona más nueva del vertedero, se encontró una gran cantidad de basura superficial. Además presentaba una gran heterogeneidad de materiales en descomposición.

Sector 2: Material ripio (hasta los 15-20 cm), suelo de consistencia extremadamente dura en seco. Zona más antigua que la anterior, no se encontró basura superficial, si en profundidad.

## **13. Caracterización química del sustrato**

Tabla 5 Caracterización química del sustrato del vertedero de Lajarilla

Parámetro	Unidad	Sector	Sector	Sector	Sector
		nuevo	nuevo	antiguo	antiguo
		03/11/99	10/12/99	3/11/99	10/12/99
PH		7,62	8,05	7,12	7,8
Conductibilidad eléctrica	mMhos/cm	2,08	3,94	3,4	2,19
Materia orgánica	%	1,39	2,28	1,32	7,21
Nitrógeno disponible	ppm	6,08	20,27	6,08	48,65
Fósforo disponible	ppm	7,81	16,09	7,18	35,36
Potasio de intercambio	ppm	69,91	116,56	40,65	287,12
Calcio	meq/100 gr suelo	11,65	13,10	14,50	19,45
Magnesio	meq/100 gr suelo	6,72	6,64	36467,00	36504,00
Zinc	ppm	6,20	5,56	14,50	19,45
Manganeso	ppm	137,50	69,00	6,89	3,12
Fierro	ppm	12,30	2,56	6,42	20,60
Cobre	ppm	6,88	1,76	7,28	29,50
Boro	ppm	0,31	NSD	1,78	0,39
Sodio	meq/100 gr suelo	1,61	2,41	1,82	0,78

#### 14. Caracterización biológica del sustrato

Dentro de la vegetación presente en el vertedero y seleccionada para la *toma* de muestras de suelo estuvo el *Schinus molle* (Pimiento).

Todas las muestras de suelo asociadas a la vegetación seleccionada presentó nemátodos de vida libre,

## **15. Caracterización de la vegetación espontánea**

Se realizó una prospección vegetacional tanto en el vertedero mismo como en el camino de acceso, terrenos y quebradas cercanas donde no existe basura enterrada, a fin de poder establecer las especies que crecen en forma natural en el sector.

En el vertedero mismo se encontraron, entre otras, Pimiento (*Schinus molle*) y Molle (*Schinus latifolia*). En las zonas aledañas, *Molle*(*Schinus latifolia*) y Peumo (*Cryptocaria alba*).

## **16. Caracterización fotosintética**

La caracterización fotosintética de las especies y los resultados de foto inhibición en el vertedero, sugieren claras diferencias entre las especies en la tolerancia a los diferentes estrés. Entre las especies más sensibles a la sequía, las plantas Peumo y Molle son las que presentaron una disminución importante tanto en las tasas máximas de fotosíntesis, tanto en invernadero como en el vertedero, principalmente relacionadas a una menor conductancia de los estomas (cierre estomático) para evitar la pérdida de agua desde las hojas.

Así mismo, las plantas de Peumo y Molle son las dos especies que presentan los efectos más notables en la menor actividad fotosintética frente al tratamiento con líquido percolado.

Los resultados en especies, dentro de las cuales se encuentra el Pimiento, que sometidas a un tratamiento de estrés, presentaron bajo sequía las tasas fotosintéticas más altas de las seis especies analizadas, sugiere que estas plantas podrían tolerar mejor, desde el punto de vista fotosintético, las adversas condiciones de estrés que podrían encontrarse en los suelos utilizados en el sellado de vertedero (ver tablas 6 y 7) (Universidad Católica de Valparaíso, 1999).

Tabla 6 Efecto de la actividad fotosintética (fotosíntesis máxima) en las plantas mantenidas en el vertedero de Lajarilla. Los valores son promedios de n=5 mediciones.

\* Promedio de los controles en la primavera (Noviembre 1999), y en el verano (Enero 2000).

Especie	Tasa de fotosíntesis máxima (A max) en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-2}$		
	Controles	Estrés hídrico	Líquidos percolados
<b>Cryptocaria alba</b> (Peumo)	2 – 3	0.3	0.2
<b>Schinus latifolius</b> (Molle)	6 – 8	1.4	7.5
<b>Schinus molle</b> (Pimiento)	10 – 22	2.6	23

Tabla 7 Efecto de los tratamientos en la eficiencia de los fotosistemas II estimados de los parámetros de emisión de fluorescencia de la Clorofila a (razón Fv/Fm) en las plantas mantenidas en el vertedero de Lajarilla. Promedio de n=10 mediciones.

Especie	Razón de fluorescencia variable / fluorescencia máxima		
	Controles	Estrés hídrico	Líquidos percolados
<b>Cryptocaria alba</b> (Peumo)	0.5	0.17	0.25
<b>Schinus latifolius</b> (Molle)	N.D.	N.D.	N.D.
<b>Schinus molle</b> (Pimiento)	0.74	0.72	0.76

## X. DATOS FOTOSINTÉTICOS DEL INVERNADERO

En invernadero presentan las respecto a los respecto a los notables fueron o las tasas fotosintéticas más disminuidas plantas que fueron sometidas a estrés hídrico con respecto a los respectivos controles, que por líquidos percolados controles. Para líquidos percolados las bajas más notables fueron para Peumo y Molle (ver tabla 8).

Los parámetros de fluorescencia medidos como fluorescencia variable respecto de la fluorescencia máxima, no muestran diferencias entre los controles y los tratamientos de sequía o líquidos percolados, que se postula sería debido a los bajos niveles de radiación

que se presentan en un invernadero lo que resultaría en la ausencia de un efecto importante del estrés lumínico en la foto inhibición junto a los tratamientos de estrés.

Tabla 8 Efecto de los diferentes tratamientos en la actividad fotosintética (fotosíntesis máxima) en las plantas mantenidas en el invernadero. Los valores corresponden al promedio n5.\* Valores promedio al 1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> mes bajo estrés.

Especie	Tasa de fotosíntesis máxima (A max) en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-2}$		
	Controles	Estrés hídrico	Líquidos percolados
<i>Cryptocaria alba</i> (Peumo)	3.3	0.8	2.2 – 1.4
<i>Schinus latifolius</i> (Molle)	6.0	1.0	2.5 – 3.6
<i>Schinus molle</i> (Pimiento)	8.6	2.6	4.9 – 5.7

# Hipótesis

Los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos que participan del sistema de defensa de la planta ante un estrés oxidativo podrían ser un buen indicador del grado de adaptación de la planta a ambientes altamente estresantes como lo es un vertedero.

**En este trabajo de tesis se define adaptación para las especies que hallan sobrevivido a la condición de estrés, independiente de las condiciones en que se encuentren.**

## Objetivo general

Evaluar el comportamiento de Catalasa, una de los antioxidantes enzimáticos que participan en el sistema de defensa contra estrés oxidativo, determinando la actividad enzimática específica de esta en tres especies nativas del sector central chileno: Molle (*Schinus latifolius*), Pimiento (*Schinus molle*), Peumo (*Cryptocarya alba*), y que están dentro de las más usadas en forestación de parques, hermoseamiento de calles y, en la etapa de re inserción de los vertederos.



## Objetivos específicos

1. Someter las tres especies a analizar (Peumo, Molle y Pimiento), a dos tipos de estrés: Hídrico, por Líquidos percolados. Tanto en invernadero como en el vertedero a reinsertar, en este caso Lajarilla (ver Introducción).
2. Tomar muestras al azar de hojas de las especies antes mencionadas, ya pasado un tiempo de haber crecido en tales condiciones.
3. Determinar la actividad específica de Catalasa para cada tipo de muestra.
4. Comparar los resultados ante muestras control, es decir, especies que no han sido sometidas a algún estrés.
5. Paralelo a los dos puntos anteriores, hacer observaciones visuales del aspecto de las tres especies tanto en invernadero como en vertedero y complementar esta información con la obtenida en laboratorio.
6. Analizar los resultados obtenidos.

# Parte experimental

## I. MATERIALES

### 1. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

- Matraz de aforo de: 50 ml, 100 ml y 1 lt
- Vaso precipitado de: 500 ml, 250 ml, 100ml y 50 ml
- Espátula de metal
- Balanza digital ( $\pm 0001$  gr) *Acculab<sup>R</sup>* V - Img
- PH metro *Hanna Instruments* Hi 9321 microprocessor
- Agitador magnético *Hanna Instruments* Magnetic Stirrer Hi 190 M *Thermolyne*  
Type 1000 Stir Plate
- Barra magnética
- Pizeta

### 2. EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS

- Mortero
- Micro pipeta de 100-1000 ul
- Pipeta graduada de 5 ml
- Respectivas puntas para la micro pipeta
- Tubos Eppendorf de 1,5 ml
- Toalla NOVA
- Centrífuga *Hettich Zentrifugen* Rotofix 32

### **3. ALMACENAMIENTO DE EXTRACTOS**

- Refrigerador *Whirlpool* No Frost 390

### **4. ALMACENAMIENTO DE HOJAS**

- Congelador *Legacy Refrigeration System* Reuco

### **5. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS**

- Papel aluminio *Marien Film*
- Aire líquido
- Vaso Dewar

### **6. ACTIVIDAD DE CATALASA**

- Espectrofotómetro *Spectronic<sup>R</sup> Génesis<sup>TM</sup> 8*
- Cubeta de cuarzo
- Cronómetro
- Micropipeta de 100-1000 ul

### **7. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS**

- Espectrofotómetro *Spectronic<sup>R</sup> Génesis<sup>TM</sup> 8*
- Cubeta de acrílico
- Micropipeta de: 100-1000 ul, 10-100 y 1-10 ul

- Baño termostático *MEMERT*

## II. REACTIVOS

### 1. PARA EXTRACCIÓN DE LA ENZIMA:

- **Tampón fosfato pH 7,0:** 50 mM de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$  (PM 268,07 gr/mol).
- **Solución extractante:** 2 mM EDTA ( $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{C}_8\text{Na}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$  PM 372,24gr/mol); 1 ml de PVP *Irvine Scientific* liofilizado (para 250 ml de tampón fosfato pH 7,0), reconstituido en 1ml de medio (tampón fosfato pH 7,0).
- **Aire líquido.**
- **Agua destilada.**

### 2. PARA ACTIVIDAD DE CATALASA:

- **Tampón fosfato pH 7,0:** 50 mM de  $\text{Na}_2\text{HPC}_4 \times 7 \text{ WC}$  (PM 268,07 gr/mol).
- **Solución peróxido de hidrógeno:** 140 ul de solución  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 29% p/v en 100 ml de agua destilada, lo que da aproximadamente una  $A_{420 \text{ nm}}$  de 0,560.
- **Blanco del control:** tampón fosfato.
- **Control:** 2,7-2,6 ml de solución peróxido de hidrógeno según fuera el caso (ver a continuación).
- **Blanco del ensayo:** 300 ul de extracto (a excepción de los extractos de Peumo del invernadero que al quedar muy diluidos hubo que tomar 400 ul); 2,7- 2,6 ml de tampón fosfato pH 7,0.
- **Ensayo:** control más 300-400 ul de extracto.
- **Agua destilada.**

### **3. PARA LA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO DE LOWRY**

- **Lowry A:** 20 ml de 22.2 gr/lt  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 4,44 gr/lt NaOH y 1,78 gr/lt tartrato de sodio.
- **Lowry B:** 400 ul de  $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  al 4%.
- **Lowry C:** 200 ul de SDS al 10%.

A la mezcla de estos tres se le llamará **Lowry**.

- **Reactivo de Folin Cicateau:** solución 1:2 del reactivo con respecto a agua destilada.
- **BSA:** solución stock de 1 mgr/ml

## **III. PROCEDIMIENTO**

### **1. RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS**

La selección de muestras (hojas) fue hecha al azar, y se usaron tres especies típicas de la zona central:

- Peumo, nombre científico *Cryptocarya alba*
- Pimiento, nombre científico *Schinus Molle*
- Molle, nombre científico *Schinus latifolius*

Cada especie fue sometida a dos condiciones experimentales: estrés hídrico y por líquidos percolados o lixiviados, sumado a ello los controles. Y se hicieron crecer en dos lugares físicos: Invernadero de la I. Municipalidad de Viña del Mar, Vertedero Lajarilla (ver Antecedentes sobre el vertedero Lajarilla), terreno perteneciente a la comuna de Con Con, cuyo relleno está bajo la responsabilidad de la misma municipalidad antes mencionada.

Para cada condición se hicieron crecer siete ejemplares aproximadamente en el invernadero y tres ejemplares en el vertedero de los cuales tres de ellos se ocuparon en la toma de muestras tanto en invernadero como en vertedero.

Tabla 9 Abreviaturas asignadas a las diferentes especies bajo diferentes condiciones.

Muestras	TABULACIÓN		
	Control	Estrés hídrico	Líquidos percolados
Peumo o <i>Cryptocarya alba</i>	V o I Pc*	V o I Peh*	V o I Plp*
Pimiento o <i>Schinus Molle</i>	V o I Pic*	V o I Pieh*	V o I Pilp*
Molle o <i>Schinus</i> <i>latifolius</i>	V o I Mc*	V o I Meh*	V o I Mlp*

V: vertedero.

\* Pc: Peumo control

Pic: Pimiento control

Mc: Molle control

Peh: Peumo bajo estrés hídrico

Pieh: Pimiento bajo estrés hídrico

Pilp: Pimiento bajo líquidos percolados

Mlp: Molle bajo líquidos percolados

Meh: Molle bajo estrés hídrico

Plp: Peumo bajo líquidos percolados

I: invernadero.

c: control, es decir, agua día por medio o cada dos días y nutriente foliar (macro y micro nutrientes en solución aplicados a la hoja con spray cada 15 días o 3 semanas).

eh: estrés hídrico, es decir, riego una vez por semana (100 ml), más nutriente foliar con la misma frecuencia que el control.

lp: líquidos percolados o lixiviados, es decir, riego con líquidos percolados del vertedero Lajarilla con la misma frecuencia que el control. (para la composición ver INTRODUCCIÓN: ANTECEDENTES VERTEDERO LAJARILLA

Los pasos a seguir fueron los siguientes:

1. Se cortó de forma directa, manualmente, las hojas.

2. Se envolvió en papel aluminio\*, rotuló, introdujo en vaso Dewar\* (que ya contenía aire líquido) y trasladó hasta el lugar de almacenaje (en este caso congelador\*), y almacenó a -80°C.

**\* Ver apartado MATERIALES.**

## **2. EXTRACCIÓN DE ENZIMAS**

Según lo recomendado por el profesor guía de esta tesis:

- a. Se colocó el tejido en el mortero\*.
- b. Se agregó inmediatamente aire líquido, en suficiente cantidad como para que el tejido quedara completamente congelado y listo para triturar. Se repitió las veces que fue necesario, de tal manera que se obtuviera un polvillo, cuyas partículas fueron lo más pequeñas posible.
- c. Se agregó la Solución extractante\*\* en una proporción de 7:1 aproximadamente con respecto al peso del tejido, y se continuó triturando, hasta obtener una solución lo más homogénea posible, es decir, que no quedaran partículas de gran tamaño en suspensión.
- d. Se depositó la mezcla anterior en tubos Eppendorf\* o en su defecto, en cualquier tubo que sirviera para poder someter esta mezcla a centrifugación\*. La velocidad ocupada fue de 40000 rpm en un tiempo de 20 minutos.
- e. Se rescató el sobrenadante (también en tubos Eppendorf) y almacenó en refrigerado\*, a 5°C.

Con esto, ya se pudo obtener actividad de Catalasa, con un tiempo de conservación del extracto de aproximadamente 1 mes.

**\* Ver apartado MATERIALES.**

**\*\* Ver apartado REACTIVOS.**

### 3. ACTIVIDAD DE CATALASA (*Catálogo SIGMA, 1999*)

- **Reacción:**



- **Unidad de Catalasa:**

Cantidad de enzima capaz de descomponer 1  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{min}$ , a pH 7,0, en tampón fosfato a 25°C.

El procedimiento es el siguiente (*Catálogo SIGMA, 1999*):

1. Se ajustó a absorbancia cero con Blanco del control\* todo a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 240 nm.
2. Se midió el Control\* y anotó el valor.
3. Se fue a absorbancia cero con Blanco del ensayo\*.
4. Se midió el Ensayo\*, es decir, se agregó al Control\* a tiempo cero, la cantidad de extracto ya mencionada, y anotó la absorbancia pasados 30 segundos.

\* Ver sección REACTIVOS.

### 4. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO DE LOWRY

Consistente en la cuantificación de la coloración resultante de la reacción del reactivo de Folin-Ciocateu con los residuos de Tirosina y Triptófano de la proteína, comparando esta coloración con la resultante de la reacción de diferentes cantidades de una proteína estándar (la albúmina de suero de bovino (BSA)).



### **Curva de calibrado.**

- a. Se tomaron volúmenes distintos de BSA\* entre 0 y 50 ul y depositaron en distintos tubos.
- b. Se agregó a cada uno de estos 1 ml se esperó 5 mm. de la mezcla Lowry, se vortearon y se esperó 5 min.
- c. Se agregó a cada uno 100 ul del reactivo Folin Ciateau\*, se vorteo nuevamente.
- d. Se colocaron en baño termostatzado a 55°C por 10 min.
- e. Se midió la absorbancia a 750 nm en espectrofotómetro\*\*.

**Nota:** Se ajustó a cero con el patrón de 0 ul de BSA.

### **Determinación de proteínas.**

- a. Por cada extracto, es decir, por cada muestra, se tomó un volumen adecuado cuyo valor de absorbancia estuviera dentro de los valores de absorbancia de la curva de calibrado lo que implicó en ciertos casos tener que hacer diluciones o tomar volúmenes menores de estos hasta obtener tal valor.
- b. Los pasos siguientes son los mismos que los seguidos para la curva de calibrado, para cada extracto.

**\*Ver REACTIVOS.**

**\*\*Ver materiales.**

## IV. CÁLCULOS Y FÓRMULAS

### 1. ACTIVIDAD DE CATALASA

$$\frac{\Delta A}{T} = \frac{C - E}{T}$$

- $\Delta A$ : Variación de absorbancia en el tiempo de ensayo (T).
- C: Valor absorbancia del control\*.
- E: Valor absorbancia del ensayo\*.
- T: Tiempo de duración del ensayo en segundos.

$$\text{Act} = \Delta A \times 69$$

- Act: Variación anterior a 1 min de absorbancia a un 1 mm de ensayo (llevar la  $\Delta A$  de ensayo por simple regla de tres)
- $\Delta A$ : Variación de absorbancia en 1 min
- 69: Valor obtenido sabiendo que una variación de 0,05 en absorbancia en el ensayo, corresponde a 3,45 unidades de Catalasa\*\*, luego por regla de tres se obtiene esta fórmula.

### 2. CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNAS

Interpolando el valor de absorbancia obtenido del extracto por el método de Lowry, en la curva de calibrado.

$$Y = mx + b$$

- Y = absorbancia correspondiente al extracto.
- X = concentración de proteína en mgr/ml
- m = pendiente.
- b = intercepto.

\* Ver REACTIVOS

\*\*Obtenido del catálogo *Sigma*, ver BIBLIOGRAFÍA

### 3. ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE CATALASA.

$$\text{Act esp} = \frac{\text{Act}}{m}$$

- Act esp: actividad específica de Catalasa.
- Act: actividad del volumen de extracto.
- m: miligramos de proteína correspondiente al volumen de extracto ocupado para el ensayo de actividad.

#### 4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

No se aplicó ningún estudio estadístico ya que, como se verá en la siguiente sección, las diferencias que se obtuvieron respecto de los valores control fueron de más del 50%. Tomando en cuenta que los diferentes modelos estadísticos que existen para poder comparar dos poblaciones de datos buscan, justamente, hacer evidente la más mínima diferencia que pudiera haber entre dos poblaciones, siempre y cuando esta sea lo suficientemente significativa.

#### V. RESULTADOS

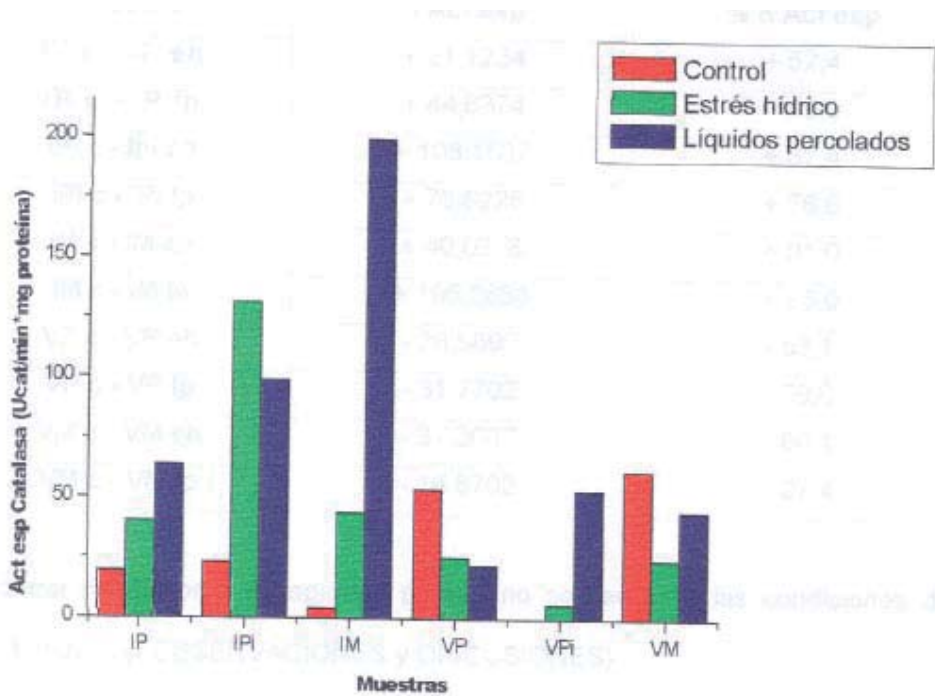
##### 1. Cuadro resumen de los datos obtenidos

Tabla 10 Datos obtenidos de la actividad y actividad específica de Catalasa para Peumo, Pimiento y Molle control, bajo estrés hídrico y por líquidos percolados.

MUESTRA	Volumen de ensayo	Act [ <u>U<sub>catalasa</sub></u> ] min	mgrs prot en volumen ensayo	Act esp [ <u>Act</u> ] mgrs
IP c	450 ul	8,073	0,4200	19,2214
IPi c	300 ul	3,726	0,1614	23,0855
IM c	300 ul	0,690	0,1740	3,9655
VP c	300 ul	54,096	1,0050	53,8269
VM c	300 ul	67,896	1,1010	61,6676
IP eh	460 ul	53,820	1,3340	40,3448
IPi eh	300 ul	18,216	0,1388	131,2392
IM eh	300 ul	13,110	0,2980	43,9933
VP eh	300 ul	73,692	2,9200	25,2370
VPI eh	300 ul	3,036	0,5160	5,8837
VM eh	300 ul	13,800	0,5610	24,5989
IP Ip	300 ul	81,420	1,2750	63,8588
IPi Ip	300 ul	14,214	0,1440	98,7083
IM Ip	300 ul	18,630	0,0935	199,2513
VP Ip	300 ul	78,522	3,5600	22,0567
VPI Ip	300 ul	50,784	0,9540	53,2327
VM Ip	300 ul	82,248	1,8360	44,7974

**2. Gráfico en base a los datos de actividad específica de Catalasa de la tabla 6**

Gráfico 1 Comparación de la actividad específica de Catalasa entre control, estrés y líquidos percolados para las tres especies analizadas, tanto en invernadero como en vertedero



**3. Tabla de datos de la variación de los datos de estrés hídrico y por líquidos percolados con respecto a los datos control para Peumo, Pimiento y Molle.**

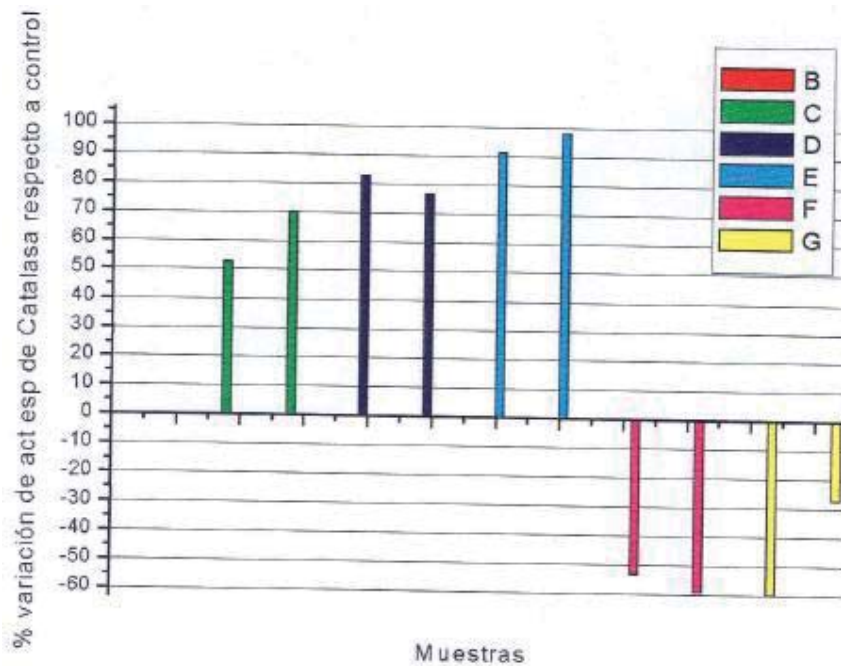
Tabla 11 Variación y % de variación de la actividad específica de Catalasa para Peumo, Pimiento y Molle bajo estrés hídrico y por líquidos percolados con respecto al correspondiente valor control.

Muestra	$\Delta$ Act esp	% $\Delta$ Act esp
IP c - IP eh	+ 21,1234	+ 52,4
IP c - IP lp	+ 44,6374	+ 69,9
IPi c - Ipi eh	+ 108,1537	+ 82,4
IPi c - IPi lp	+ 75,6228	+ 76,6
IM c - IM eh	+ 40,0278	+ 91,0
IM c - IM lp	+ 195,2858	+ 98,0
VP c - VP eh	- 28,5899	- 53,1
VP c - VP lp	- 31,7702	- 59,0
VM c - VM eh	- 37,0687	- 60,1
VM c - VM lp	- 16,8702	- 27,4

\* Control de Pimiento no aparece porque no sobrevivió a las condiciones del vertedero (ver OBSERVACIONES y DISCUSIONES).

#### 4. Gráfico construido basándose en los datos de la tabla 7

Gráfico 2 % de variación de la actividad de Catalasa para las tres especies sometidas a estrés hídrico y por líquidos percolados con respecto al correspondiente valor control



- |                 |               |
|-----------------|---------------|
| C: IPc - IPeh   | IMc - IMIp    |
| IPc - IPIp      | F: VPc - VPeh |
| D: IPic - IPieh | VPc - VPIp    |
| IPic - IPilp    | G: VMc - VMeh |
| E: IMc - IMeh   | VMc - VMIp    |

**Nota:** VPi no aparece porque al tiempo que fueron tomadas las muestras el control no había sobrevivido a las condiciones (ver DISCUSIÓN).

**5. imágenes digitales de ¿as especies en er invernadero luego de cuatro meses de haber tomado las muestras**



**Foto 1:** Peumo control, estrés hídrico, líq. perc.



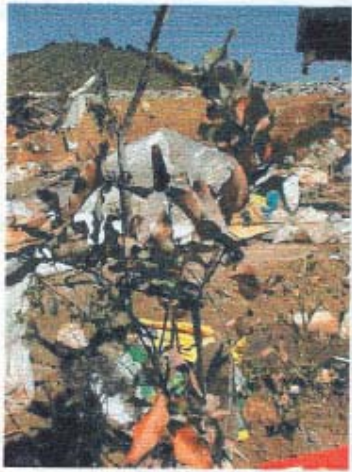
**Foto 2:** Pimiento control, estrés hídrico, líq. perc.



**Foto 3:** Molle control, estrés hídrico, líq. perc.

6. imágenes digitales de las especies en el vertedero luego de cuatro meses de haber tomado las muestras





**Foto 4:** Peumo control



**Foto:** Molle control



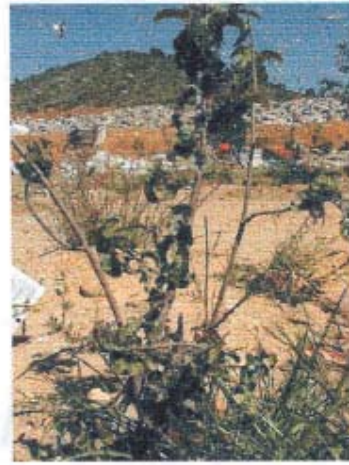
**Foto5:** Peumo estrés  
hídrico



**Foto 5:** Molle estrés  
hídrico



**Foto 7: Peumo líquidos percolados**



**Foto 6: Molle líquidos percolados**

# Observaciones y discusiones

## **I. REFERENTE A LAS OBSERVACIONES VISUALES HECHAS SOBRE PEUMO, PIMIENTO Y MOLLE TANTO EN INVERNADERO COMO EN VERTEDERO**

### **1. En el invernadero**

Antes de comenzar, es necesario hacer una aclaración. Las siguientes observaciones, fueron hechas cuatro meses después de haber tomado las muestras. Al momento de tomar las muestras las plantas se encontraban en as condiciones estrictas preestablecidas (control, estrés hídrico, líquidos percolados), lo que se ve reflejado en los datos obtenidos para la actividad específica de Catalasa, como se verá más adelante. Al momento de tomar las fotos digitales y hacer las observaciones correspondientes que ahora se expondrán, estas condiciones estrictas no eran tal. En general las plantas se vetan en mal estado, muy deshidratadas, siendo que esta última condición solo se debió haber visto en las sometidas a estrés hídrico, porque el resto debieron ser adecuadamente regadas ya sea con solo agua (controles), como con líquidos percolados del vertedero Lajarilla (estrés por líquidos percolados).

Para poder hacer un análisis ordenado de lo observado en estas tres especies, se recurrió a una tabulación de las observaciones, tomando como parámetros significativos, los síntomas que en bibliografía se hacen mención para una planta que está sometida a estrés (tanto hídrico como por líquidos percolados, tomando en cuenta que para este último no hay una descripción específica pero, si se toman en cuenta los datos colectados de la constitución de los líquidos percolados en el vertedero Lajarilla. se podrá hacer un análisis de su influencia):

Tabla 12 Observaciones recogidas de Peumo en invernadero tanto para control como para estrés hídrico y líquidos percolados.

	IPc	IPeh	IPip
Hojas antiguas	(+)	(+)	(+)
Hojas nuevas	(+)	(-)	(+) 1 de 3 plantas
Hojas grandes	(+) en su mayoría.	Pocas	(+) mediana-grande
Hojas pequeñas	(-)	(+) en su mayoría.	(-)
Hojas secas	(-)	(-) correspondiente al 5% del total de hojas, aproximadamente.	(+) en su mayoría.
Hojas ½ verdes, ½ secas	(-)	(+)	(+) 1 de 3 plantas.
Brotos	(-)	(-)	(+) 1 de 3 plantas
Uniformidad en distribución de hojas	(+)	(-) es notorio el desfoliamiento.	(-) es notorio el desfoliamiento.
Crecimiento en altura del arbusto	No significativo		

Tabla 13 Observaciones recogidas de Pimiento en invernadero tanto para control como para estrés hídrico y líquidos percolados

	IPic	IPieh	IPilp
Hojas antiguas	(+)	(+)	(+)
Hojas nuevas	(+)	(+)	(+) muy poca
Hojas grandes	(-)	(-)	(-)
Hojas pequeñas	(+)	(+)	(+)
Hojas secas	(+) representan el 7% del total de hojas.	(+) representan un 36% del total de hojas.	(-) ya se han caído
Hojas ½ verdes, ½ secas	(-)	(-)	(-)
Brotos	(-)	(-)	(-)
Uniformidad en distribución de hojas	(-) es notorio el desfoliamiento.	(-) es notorio el desfoliamiento.	(-) es notorio el desfoliamiento.
Crecimiento en altura del arbusto	Ipic > Ipieh > IPilp		

Tabla 14 Observaciones recogidas de Molle en invernadero tanto para control como para estrés hídrico y líquidos percolados.

	<b>IMc</b>	<b>IMeh</b>	<b>IMip</b>
<b>Hojas antiguas</b>	(+)		(+)
<b>Hojas nuevas</b>	(+)	(+)	(-)
	pocas	en su mayoría	
<b>Hojas grandes</b>	(-)	(-)	(-)
<b>Hojas pequeñas</b>	(-)	(-)	(-)
<b>Hojas secas</b>	(+)	(+)	(-)
	pocas	aproximadamente un 30% del total	ya se han caído
<b>Hojas ½ verdes, ½ secas</b>	(-)	(-)	(-)
<b>Brotos</b>	(-)	(-)	(-)
<b>Uniformidad en distribución de hoja</b>	(+)	(-)	(-)
			notorio desfoliamiento.
<b>Crecimiento en altura del arbusto</b>		No significativo	

Estas observaciones fueron hechas en Octubre del año 2000. Época en que se termina el invierno y comienza la primavera. Por lo tanto, podría encontrarse que algunas de las especies estén en periodo de brotes, como podría ser que no, ya que es una época de transición entre una estación y otra.

Para Peumo se sabe que su época de floración, que se tiende a asociar con brotes, es entre Noviembre y Diciembre; para Molle es entre Septiembre y Octubre; sobre Pimiento no se tiene información, pero se podría suponer que es entre los meses antes mencionados. No comento sobre flores ni frutos, porque en ninguna de las especies bajo ninguna de las condiciones analizadas se observó tal. Posiblemente esto se dé a una edad más madura de estas especies, o el estrés al cual estuvieron sometidas no lo permitió.

### **1.1. Estrés hídrico**

Peumo (IPeh tabla 9 de esta misma sección). Notorio desfoliamiento. No hay presencia de hojas nuevas (en comparación con IPc e IPlp), una deficiente cantidad de hojas grandes, lo que se ve “reemplazado” por hojas pequeñas.

Todo lo anterior es síntoma típico de estrés hídrico, en que la planta prioriza votando las hojas que ya generó, no generando más hojas. Y las que generó, ya estando bajo esta condición, de tamaños pequeños con respecto al normal observado.

Cabe mencionar que otros Peumos que allí se encontraban, de los cuales no se tomaron muestras, (como tampoco se tomaron fotos digitales), se vejan en mejor estado. Sería interesante hacer un estudio de comparación dentro de la misma especie.

Pimiento (IPieh tabla 10 de esta misma sección). A excepción de la presencia de hojas nuevas, los síntomas antes mencionados para Peumo son similares en este, sumándose además la no presencia de hojas grandes, siendo que, en Peumo, aunque en menor cantidad, si las tenía.

Se puede ver que el Pimiento control presenta algunos síntomas que podrían estar delatando falta de agua, como son, no hojas grandes, en cambio hojas pequeñas, secas, y notorio desfoliamiento. Esto último apoyaría la observación hecha en un comienzo con respecto al aspecto general de las plantas en el invernadero al momento de tomar las fotos digitales. Es notorio el descuido por parte de las personas encargadas de velar por estas plantas.

Molle (IMeh tabla 11 de esta misma sección). Curiosamente se puede ver que presenta mayormente hojas nuevas, no presenta hojas maduras pequeñas, pero si presenta hojas secas (en un 30% aproximadamente de la planta). El resto es similar al Peumo: no brotes (que podrían no presentarse debido a que ya se desarrollaron: presencia de hojas nuevas), y ausencia de uniformidad en la distribución de las hojas. Se puede decir que lo más posible es que no le haya afectado sobremanera el estrés hídrico, y que habiendo hecho estas observaciones aproximadamente en Octubre, cuando el invierno está terminando y la primavera comienza, estaría en un proceso normal de renovación del follaje y no habría sido afectado en gran manera por este estrés.

El hecho de que bajo este estrés las especies analizadas no presenten brotes, coincide con los síntomas típicos de falta de agua. Como anteriormente se dijo, no desperdiciar la poca agua disponible en generar hojas nuevas, y asegurar la sobrevivencia a cualquier costo.

## 1.2. Líquidos percolados

Los datos que del vertedero Lajarilla se presentan con respecto a la composición de los líquidos percolados, que es con lo que se regó las tres especies sometidas a este estrés, dan cuenta de la presencia de:

- **Arsénico:** 0,0186 – 0,0572 mg/l (rango tóxico para el crecimiento de las plantas: 0,02 - 7,5 ppm o mg/l)
- **Cadmio:** 0,062 - 0,113 mg/l (rango tóxico para el crecimiento de las plantas: 0,2 - 9,0 ppm o mg/l)
- **Cobre:** 0,124 - 1,04 mg/l (rango tóxico para el crecimiento de las plantas: 0,5 y 8,0 ppm)
- **Cromo:** 0,348 - 0,75 mg/l (rango tóxico en para el crecimiento de las plantas: 0,5 y 10,0 ppm o mg/l)
- **Mercurio:** 0,0037 - 0,0271 mg/l (no hay información)
- **Níquel:** 0,286 - 0,63 mg/l (rango tóxico en para el crecimiento de las plantas: 0,5 y 2.0 ppm o mg/l)
- **Plomo:** 0,372 – 0,605 mg/l (no hay información)
- **Zinc:** 0,244 - 0,63 mg/l (concentración en tejido seco de la planta: 20 mg/kg)\*
- **Cloruros:** 0,896 - 5,47 mg/l (concentración en tejido seco de la planta: 100 mg/kg)\*
- **Cianuros:** < 0,05 mg/l (no hay información)
- **Aceites y grasas:** 9,0 - 20,8 mg/l (no hay información)



**\* Se hace mención de este valor (tabla 1 de Introducción) para hacer notar que también están dentro de los elementos nutricionalmente necesarios a pesar de poder existir rangos tóxicos que pueden afectar al crecimiento de las plantas.**

Haciendo una revisión de los antecedentes bibliográficos (tabla 2 de la sección Introducción) se puede ver que, aunque no se mencionan dentro de los compuestos típicos encontrados en un vertedero a los compuestos recién listados, los valores para los compuestos citados en tal tabla fluctúan entre 5 mg/l y 30000 mg/l, siendo los valores más bajos para los vertederos más antiguos (mayor que 10 años) y los valores más altos para los vertederos más jóvenes (de menos de 2 años). Era de esperarse, si se piensa que un vertedero joven está en plena etapa de descomposición de los desechos y es cuando más producción hay de los compuestos que contienen a estos elementos (etapa de plena acción del terreno como vertedero), y al revés, los vertederos más viejos ya habrán dejado de descomponer desechos, ya que no hay más “alimentación” del vertedero con desechos.

Se puede ver, que los valores correspondientes a los del vertedero Lajarilla son bastante bajos si se comparan con los típicos mencionados en los antecedentes bibliográficos para los líquidos percolados de un vertedero tipo (ver tabla 2), y de hecho, este vertedero tiene más de 10 años (15 años para ser más exactos), lo que es coincidente con lo anteriormente discutido.

Respecto a las discusiones referentes a los efectos visualmente distinguibles que los líquidos percolados pudieron haber ejercido sobre las tres especies analizadas, no es mucho el apoyo bibliográfico que sobre este tema hay. De lo que más información hay, es sobre acumulación de metales pesados en plantas, capacidad de estas para acumularlos, y todo lo que tenga que ver con este aspecto, claramente dirigido a obtener más datos que puedan ser ocupados en el área de fitorremediación. Luego, en lo que a consecuencias de la toxicidad por metales pesados en plantas se refiere, y cómo las puede afectar, es muy poca la información que hay, y la poca que se puede encontrar es muy general. Teniendo en cuenta esto, es que se procederá a discutir respecto a este estrés.

Ahora, respecto a los datos del vertedero Lajarilla (tabla 4 de los Antecedentes bibliográficos). Se puede ver que los valores más altos se presentan para aceites y grasas, y de esto no se puede hacer gran comentario más que suponer que la presencia de este componente en cantidad considerable podría formar una capa al nivel de las raíces, que podría impedir la absorción de nutrientes iónicos de la fase acuosa, pero en los antecedentes bibliográficos recolectados no hay información acerca de esto, es una mera especulación. Los valores que le siguen en cantidad, en escala decreciente son los cloruros, de los cuales solo se tiene información de su funcionamiento como nutriente, es decir, en niveles aceptables, que no se sabe cuales son, Luego viene cobre, cuyo valor más alto del rango de concentración cae dentro del rango de toxicidad junto con arsénico, cadmio, cromo y níquel, a pesar de que se sabe que cobre y níquel presentan rangos de funcionalidad como nutrientes. Zinc también se menciona como un nutriente esencial, sin tener información sobre su rango de toxicidad. Del plomo y mercurio solo se sabe que son metales pesados, no se menciona su función como nutrientes. Finalmente los cianuros, a pesar de no ser metales pesados, es conocida su acción tóxica sobre los seres vivos que llevan a cabo la respiración aerobia, interfiriéndola.

Peumo (IPlp tabla 9 de esta misma sección) No presenta hojas pequeñas, sino solo medianas, en comparación con el Peumo control. En uno de tres Peumos hay hojas nuevas y brotes, a pesar de que su época de floración es entre Noviembre y Diciembre. Presenta hojas secas en su mayoría y se hace notorio el desfoliamiento.

Pimiento (IPilp tabla 10 de esta misma sección). Presenta hojas antiguas y nuevas pero pequeñas en tamaño. Es notorio el desfoliamiento, y aunque no se ven hojas secas, es claro a la vista que las hojas secas se han caído. No hay brotes.

Molle (IMlp tabla 11 de esta misma sección). Solo hay presencia de hojas antiguas. El desfoliamiento es notorio, a tal punto que ni siquiera hay hojas secas. No hay brotes, a pesar de que su época de floración es entre Septiembre y Octubre.

En vista y considerando el comentario anteriormente dicho con respecto al cuidado de estas plantas, es claro que estas especies también se vieron afectadas por la falta de agua.

A pesar de la poca información acerca del estrés por líquidos percolados en las plantas, que podría incluir uno de los síntomas antes mencionados, y que podrían ser

coincidentes con los síntomas de estrés hídrico, la única información clara, es que se ve afectado el crecimiento, y respecto a esto, el único notoriamente afectado fue el Pimiento que presenta un crecimiento notoriamente disminuido respecto del mismo pero bajo estrés hídrico y control.

Por otro lado, pudiera ser que los componentes del líquido percolado hubieran afectado, como bien se hace referencia en los antecedentes bibliográficos, la absorción de nutrientes esenciales para las plantas. Como rasgo común de la deficiencia de nutrientes esenciales se menciona la clorosis (ver Anexo A de la sección Anexos para su definición) dentro de los tantos síntomas que se mencionan. Y si se observan detenidamente las fotos digitales de estas plantas, es claro el tono verde-amarillento de sus hojas.

Cabe agregar que en contraposición a lo antes comentado, podría haber pasado que estos metales pesados hayan actuado como nutrientes, sabiendo que hay rangos óptimos de acción también para estos en las plantas. Posiblemente esta acción se pueda haber visto solapada por la afectación general que tuvieron estas plantas por la falta de agua.

### **1.3. Estrés hídrico versus líquidos percolados**

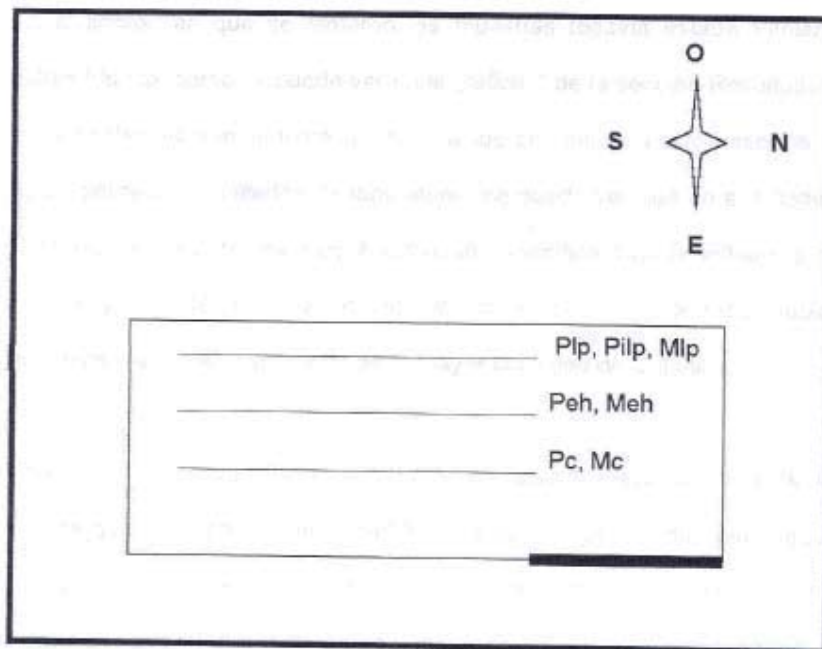
Finalmente quiero hacer mención sobre la posibilidad de que ambos estrés se hallan “sumado” para dar como resultado la sintomatología antes mencionada, es decir, resistencia cruzada (ver Anexo A de Anexos). Pero esto último se retomará más adelante cuando se comente sobre los resultados de laboratorio obtenidos.

## **2. En el vertedero**

Como en invernadero, también se hará una aclaración previa. Las condiciones de experimentación, al momento de hacer las observaciones visuales no eran estrictas. Pero en el caso del vertedero esta “nueva” condición también estaba presente al momento de tomar las muestras, luego, como se verá más adelante, esto se ve reflejado en los datos que se obtuvieron sobre la actividad específica de Catalasa.

Para comenzar esta discusión es necesario partir haciendo las siguientes observaciones. El terreno donde fueron plantadas las especies de interés es un sector pequeño, de unos 6 x 4 metros, que da a una quebrada cuya orientación es hacia el poniente. El terreno tiene una no despreciable inclinación de este a oeste. Este año las lluvias fueron abundantes y al no estar más protegido este terreno que con una cerca, estas “regaron” las plantas allí existentes sin excepción, es decir, las condiciones de estrés hídrico no fueron estrictas. Acerca de esto último también se hace imprescindible tomar en cuenta que los líquidos percolados existentes en el vertedero eluyeron junto con las aguas lluvias en el sentido de la inclinación antes mencionada. Tomando en cuenta que el orden de las condiciones de estrés a las que fueron sometidas las tres especies ya conocidas en este terreno fue, de este a oeste: control, estrés hídrico y líquidos percolados (ver figura 1), las plantas control, sobre todo, se vieron también sometidas a la acción de los líquidos percolados.

Figura 1: Distribución de las condiciones de estrés en el vertedero.



No se mencionan en este esquema Pimiento control, ni Pimiento estrés hídrico, porque no sobrevivieron.

## **2.1. No-sobrevivencia de Pimiento “control” y estrés hídrico**

Respecto a este punto se hace un tanto dificultoso hacer mención de los factores que pudieron haber influido. Pareciera no haber un patrón de comparación.

En el tiempo en que se tomaron las muestras todavía estaba Pimiento estrés hídrico (como se puede ver en el gráfico 1 de la sección Resultados). Y de hecho adelantándome un poco a los comentados que después se harán sobre los resultados de laboratorio, se puede ver que en ese tiempo Catalasa se ve con una mayor actividad específica bajo la influencia de líquidos percolados que bajo estrés hídrico, es decir, podría haber habido adaptación al primero producto de la mayor actividad de Catalasa.

Ahora, es curioso que Pimiento “control” no haya sobrevivido, tomando en cuenta que también estuvo sometido a la acción de líquidos percolados. Quizás aquí primé el mero hecho de ser plantas distintas, a pesar de ser la misma especie. Como también se sugiere para Peumo de invernadero, se vuelve a hacer patente la necesidad de un análisis experimental que compare datos dentro de la misma especie, donde además sería bastante útil utilizar técnicas del área de la genética que podrían dar una explicación más acabada de tal comportamiento.

## **2.2. Sobre el aspecto de las plantas**

En general el aspecto es bastante saludable en comparación con las plantas del invernadero. Es muy probable que hayan influido las lluvias, ya que se observa uniformidad en la distribución de las hojas (no desfoliamiento), un buen tamaño de hoja, no pequeño, incluso en Peumo líquidos percolados es destacable el que presente hojas nuevas. Síntomas suficientes como para corroborar tal suposición.

En el caso particular del Peumo “control” se puede ver que muchas de sus hojas se ven de color café claro. Se pueden suponer dos cosas, o son hojas secas, o, producto de la acción de los líquidos percolados se produjo una clorosis. Observando más detenidamente, pareciera más acertada la primera, ya que si fuera la segunda este síntoma se habría visto en todas sus hojas, lo que no es el caso, ya que las hojas que no

están de ese color son de un verde homogéneo y oscuro, lo que para nada denota falta de hierro.

Molle “control” presenta de forma uniforme y homogéneamente distribuido, un color un tanto parduzco en las hojas, lo que si pudiese suponer una clorosis.

Molle estrés hídrico no presenta uniformidad en la distribución de sus hojas, se nota que ha perdido bastantes sobre todo en la parte basal del tronco. Lo que lleva a suponer que esta condición le afecté.

## **II. Referente a los datos obtenidos**

### **1. Gráfico 1.**

#### **1.1. Muestras del invernadero**

Se puede ver un claro aumento de la actividad específica de Catalasa tanto bajo estrés hídrico como líquidos percolados respecto al control. Para Peumo y Molle la actividad es mayor en líquidos percolados que en estrés hídrico, en Pimiento es al revés. Esto

#### **1.2. Muestras del vertedero**

Se puede ver que para Peumo y Molle el valor control presenta una mayor actividad específica de Catalasa con respecto a los valores bajo estrés hídrico y líquidos percolados. Para Pimiento no es posible hacer tal comparación, ya que el control no sobrevivió. Todas estas observaciones coinciden con el hecho de que los controles fueron “contaminados” con líquidos percolados producto de las lluvias, como anteriormente, en las observaciones visuales se comenta.

## **2. Gráfico 2**

A excepción del valor de Molle líquidos percolados contra su control, todo el resto de los valores están por encima del 50 % de diferencia. Los valores negativos muestran que los controles son menores que los respectivos valores de estrés.

# **III. CARACTERIZACIÓN FOTOSINTÉTICA, FOTOINHIBICIÓN VERSUS ACTIVIDAD ESPECÍFICA DE CATALASA**

## **1. En el invernadero**

Las tasas fotosintéticas más disminuidas las presentan las plantas que fueron sometidas a estrés hídrico con respecto a los respectivos controles, que por líquidos percolados con respecto a los controles. Para líquidos percolados las bajas más notables fueron para Peumo y Molle (ver tabla 8 de los antecedentes bibliográficos).

Los parámetros de fluorescencia medidos como fluorescencia variable respecto de la fluorescencia máxima, no muestran diferencias entre los controles y los tratamientos de sequía o líquidos percolados, que se postula sería debido a los bajos niveles de radiación que se presentan en un invernadero lo que resultaría en la ausencia de un efecto importante del estrés lumínico en la foto inhibición junto a los tratamientos de estrés.

Sí se enfrenta esto último con los resultados obtenidos para la actividad de Catalasa, una menor tasa fotosintética se ve acompañada de una no muy alta actividad específica de Catalasa para estrés hídrico en comparación con líquidos percolados. Lo que podría deberse al cierre de estomas que se genera producto de falta de agua, y que se podría estar sumando a la acción de Catalasa desde el punto de vista de la adaptación a este estrés, es decir, un efecto sinérgico.

Por otro lado, la no variación significativa de las tasas fotosintéticas, junto con una alta actividad específica de Catalasa para líquidos percolados, podría ser explicado, continuando con la idea del párrafo anterior, por las no conocidas adaptaciones mecánicas (no moleculares) que pudieran no haber sido suficientes, lo que requerirla de

una mayor actividad de Catalasa dentro de otros muchos antioxidantes pertenecientes al sistema de defensa de la planta.

## **2. En el vertedero**

Nuevamente las tasas fotosintéticas se vieron bastante disminuidas bajo estrés hídrico, respecto a los controles, en comparación con las tasas fotosintéticas para líquidos percolados. Es destacable en este último, el efecto en la tasa fotosintética de Peumo que disminuyó notoriamente en comparación con el resto de las especies (ver tabla 7 de Antecedentes bibliográficos).

Los parámetros de fluorescencia medidos como fluorescencia variable respecto de la fluorescencia máxima, si mostraron variación, sobre todo bajo estrés hídrico, presentando valores disminuidos respecto de los controles. Se sugiere un efecto sinérgico de cada uno de los estrés junto con el exceso de luz existente, lo que se ve apoyado por la falta de adaptación de algunas plantas que presentaron hojas secas e incluso muerte para las especies Peumo y Molle (ver tabla 8 de los antecedentes bibliográficos).

Enfrentando esto con los resultados de la actividad específica de Catalasa para las respectivas especies, salta a la vista el hecho de que Pimiento, en el tiempo en que se hicieron tales mediciones fotosintéticas (Octubre-Noviembre del año 1999), presentaba una mejor adaptación respecto de Peumo y Molle, lo que en Octubre de este año ya no era así. Mera casualidad, o realmente Pimiento sólo presenta signos de adaptación a corto plazo, y no a largo plazo. Vale hacer mención de las características anatómicas de estas especies, que podrían explicar en alguna forma lo que pudo haber sucedido. Molle y Pimiento presentan hojas gruesas y tanto al tacto como a la vista es notoria la capa de cera reflectora que las protege (Ver Antecedentes bibliográficos), lo que en Pimiento no está presente. Se puede observar que esta característica está presente en las plantas de climas secos. Luego, podría ser que aunque en un primer momento estas plantas no se adaptan inmediatamente, a largo plazo si tienen la capacidad de hacerlo. Ahora, que podría haber hecho que estas especies (Peumo y Molle) llegaran a morir queda en signo de interrogación, posiblemente halla sido un problema aislado dentro de la especie (aquí nuevamente cabría un estudio de comparación dentro de la misma especie). Bueno, y la



misma explicación pero por no presentar tales características, hallan hecho que a largo plazo Pimiento no se adaptara.

## Conclusión

En vista de la relación clara que hay entre la mayor o menor actividad específica de Catalasa y la exposición o no a condiciones de estrés (estrés hídrico y líquidos percolados) respectivamente, para las especies Reuma, Pimiento y Molle. Y reafirmado por el hecho de que los controles de Peumo y Molle en vertedero al verse sometidos a líquidos percolados presentaran valores bastante altas respecto a los valores control en invernadero, que incluso son más altas que los valores para estas dos especies sometidas a los estrés ya mencionados. Se puede concluir que Catalasa aumenta su actividad en Peumo, Pimiento y Molle ante condiciones de estrés hídrico y líquidos percolados respecto a valores que corresponden a condiciones no estresantes (control).

Aunque hubo adaptación de estas especies a las condiciones de estrés (ver observaciones visuales), es decir, que no hallan muerto (con la excepción de Pimiento “control” y estrés hídrico en vertedero), aunque el aspecto visual de algunas, sobre todo en invernadero hallan sido un tanto deficientes (presencia de hojas secas). No es posible concluir que Catalasa pueda ser un buen indicador del grado de adaptación de Reuma, Pimiento y Molle, a ambientes altamente estresantes como lo es un vertedero, porque para ello habría tenido que hacerse un estudio paralelo de la actividad específica de Catalasa y de la adaptación (hecha de forma visual) de las plantas. Y cuando digo paralelamente me refiero a tomar muestras y hacer las observaciones respectivas en el mismo momento. No coma en este caso, que por falta de experiencia, se tomaron las muestras y se hicieron las observaciones 4 meses después, lo que no está mal del punto de vista de ver la evolución en el tiempo de las plantas, siempre y cuando se hallan hecho las observaciones antes y después.

# Sugerencias a futuro

## **I. LO QUE NO SE VISUALIZÓ A TIEMPO**

Sería de bastante apoyo como ya se comentó en las conclusiones, el llevar a cabo tomas de muestras cada cierto tiempo versus observaciones visuales de las especies a analizar, con el fin de ver la evolución de forma más clara, ya que, en este caso, por falta de experiencia no se hicieron observaciones a la par de haber tomado las muestras, y viceversa, no se tomaron muestras al momento hacer las observaciones visuales.

## **II. EXPRESIÓN GENÉTICA**

Por otro lado, sería interesante hacer un análisis por la técnica RT-PCR, para corroborar que realmente hay una aclimatación (ver Glosario de Anexos), es decir, el aumento de la actividad específica de Catalasa está relacionada con un aumento de la expresión genética.

## **III. OTROS ANTIOXIDANTES**

El poder revisar el comportamiento de otros antioxidantes, enzimáticos (SOD, Peroxidasa, Glutación reductasa, entre otros) como no enzimáticos (Caroteno, Tocoferol), lo que permitiría tener un background más amplio de estos como para ser utilizados, además de poder comparar su eficacia (actividad versus adaptación).

## **IV. OTRAS ESPECIES**

También sería interesante hacer una comparación entre especies de plantas, con un mismo antioxidante, con el fin de evaluar su universalidad.

## Bibliografía

- Catálogo SIGMA (1999), pp.229.
- Curso de Estrés oxidativo.  
<http://www.agronomy.psu.edu/Courses/AGRO518/Oxygen.htm>
- Durver, J. & Klessig, D. (Nov. 1995) PNS 92, 11312-11316.
- Fajardo, Rodolfo. (Julio 1995) La Vegetación Natural de Chile clasificación y distribución geográfica. ed. Universitaria, pp. 54, 55.
- Hoffman J., Adriana. (Abril 1998) Flora Silvestre de Chile zona central, ed, Fundación Claudio Gay, pp. 50, 51, 62, 63.
- Hoffman J., Adriana, (Dic 1997) Flora Silvestre de de Chile zona araucana, ed. Fundación Claudio Gay. pp. 64, 65.
- Hoffman J., Adriana, (Nov. 1983) El Árbol Urbano en Chile, ed. Fundación Claudio Gay, 2ª edición, pp. 202, 203.
- Olaeta C., José A.; Espinace A., Raúl; Szantó N.; Palma G., Juan, (Oct 1999) Recopilación de Publicaciones Generadas por el Equipo de Trabajo de la Universidad Católica de Valparaíso en el Tema de Rehabilitación de Áreas Impactadas por el Vertido de Residuos Sólidos, Experiencias de Reinserción de Vertederos Mediante la Implantación de una Cubierta Vegetal, XII Congreso Chileno de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Copiapó, Chile, Octubre de 1997, pp. 1-14.
- Salisbury F., Ross C., (1994) Fisiología vegetal, ed. Iberoamericana, 4ª edición, pp. 127-148.
- Taiz & Zeiger (1998) Plant Physiology, ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, Massachusetts, segunda edición, pp. 725-754.
- Tchobanoglous, G.; Theisen, H.; Vigil, S. A., (1994), Gestión Integral de Residuos Sólidos, ed. M<sup>c</sup> Graw Hill, pp. 3-23, 469-473.
- Truong, Paul N.V.; Claridge, Jeromy, (2000), Efectos de la toxicidad de metales tóxicos sobre el crecimiento de Vetiver. [http://www.vetiver.com/AUS\\_toxaust15.htm](http://www.vetiver.com/AUS_toxaust15.htm)
- Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Ingeniería, Facultad de Agronomía, Facultad de Cs. Básicas y Matemáticas, (Valparaíso, Marzo 1999), Estudio Integrado para la Generación de Metodologías de Rehabilitación de Áreas Impactadas por el Vertido de Residuos Sólidos, Proyecto 202.780/99, Informe de Avance Periodo 1999, pp. 52-63, 75-87.

- Universidad de Valparaíso, Facultad de ciencias, Informe Técnico V-9, Análisis químico Aguas Percoladas Lajarilla, Municipalidad de Viña del Mar (muestreadas el 24/11/99).

## Anexos

### I. GLOSARIO

#### 1. **Aclimatación versus adaptación:**

**Adaptación:** Nivel determinado genéticamente de resistencia adquirida por un proceso de selección a través de algunas generaciones

**Aclimatación:** Si la tolerancia incrementa como resultado de la exposición a un estrés anterior. También llamada Adaptación, la expresión de genes juega un importante rol en la aclimatación (Taiz & Zeiger, 1998).

2. **Clorosis:** Carencia de clorofila producto de la deficiencia en hierro (Salisbury F., Ross C., 1994).

3. **Estoma:** Abertura muy pequeña que existe en la epidermis de los órganos verdes de las plantas superiores, por donde se produce el intercambio gaseoso entre los tejidos internos del vegetal y la atmósfera circundante (Taiz & Zeiger, 1998).

4. **Estrés:** Factor externo que ejerce una influencia desventajosa sobre la planta (Taiz & Zeiger, 1998).

#### 5. **Medición de estrés:**

- En relación a la sobrevivencia de la planta.
- Rendimiento de la cosecha.

- Crecimiento (asimilación de biomasa).
- Procesos de asimilación primaria (captación de CO<sub>2</sub> y minerales)

Todos relacionados con crecimiento en general (Taiz & Zeiger, 1998).

**6. Plantas suculentas:** Especies de climas áridos que poseen hojas gruesas con proporciones superficie a volumen relativamente bajas, cutícula gruesa. Y bajas tasas de transpiración (Salisbury F., Ross C., 1994).

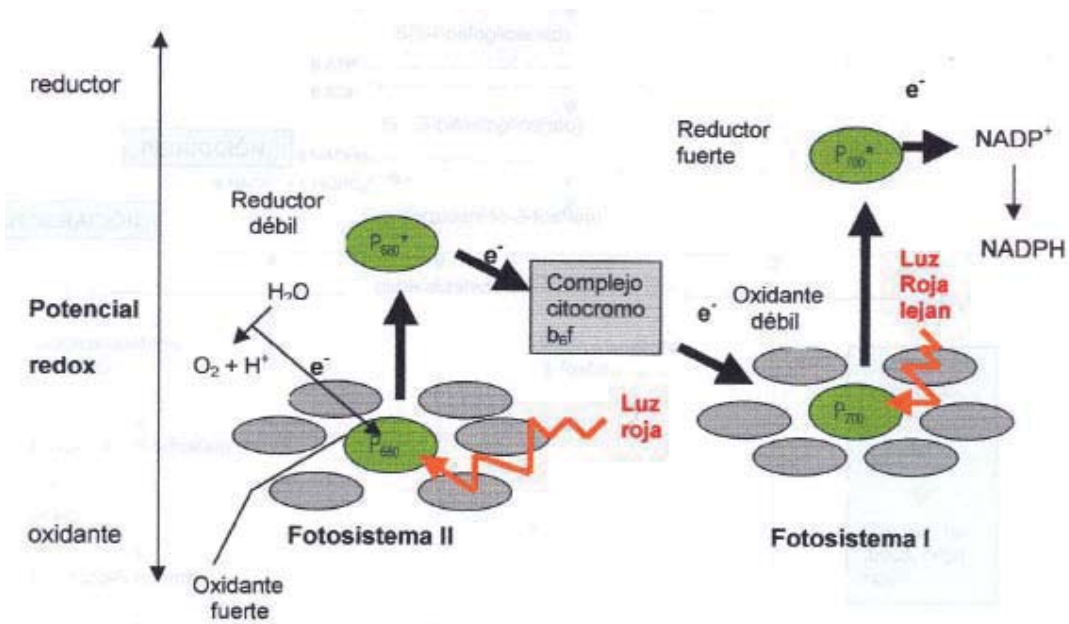
**7. Relación entre distintos estrés:** Ej. Déficit de agua está frecuentemente asociado con salinidad en la zona de la raíz y/o con estrés por calor (Taiz & Zeiger, 1998).

**8. Resistencia cruzada:** Resistencia a un estrés inducido por aclimatación a otro estrés, entonces, mecanismos de resistencia a diversos estrés comparten rasgos comunes (Taiz & Zeiger, 1998).

**9. Tolerancia al estrés:** Condición física de la planta para arreglárselas en un ambiente desfavorable (Taiz & Zeiger, 1998).

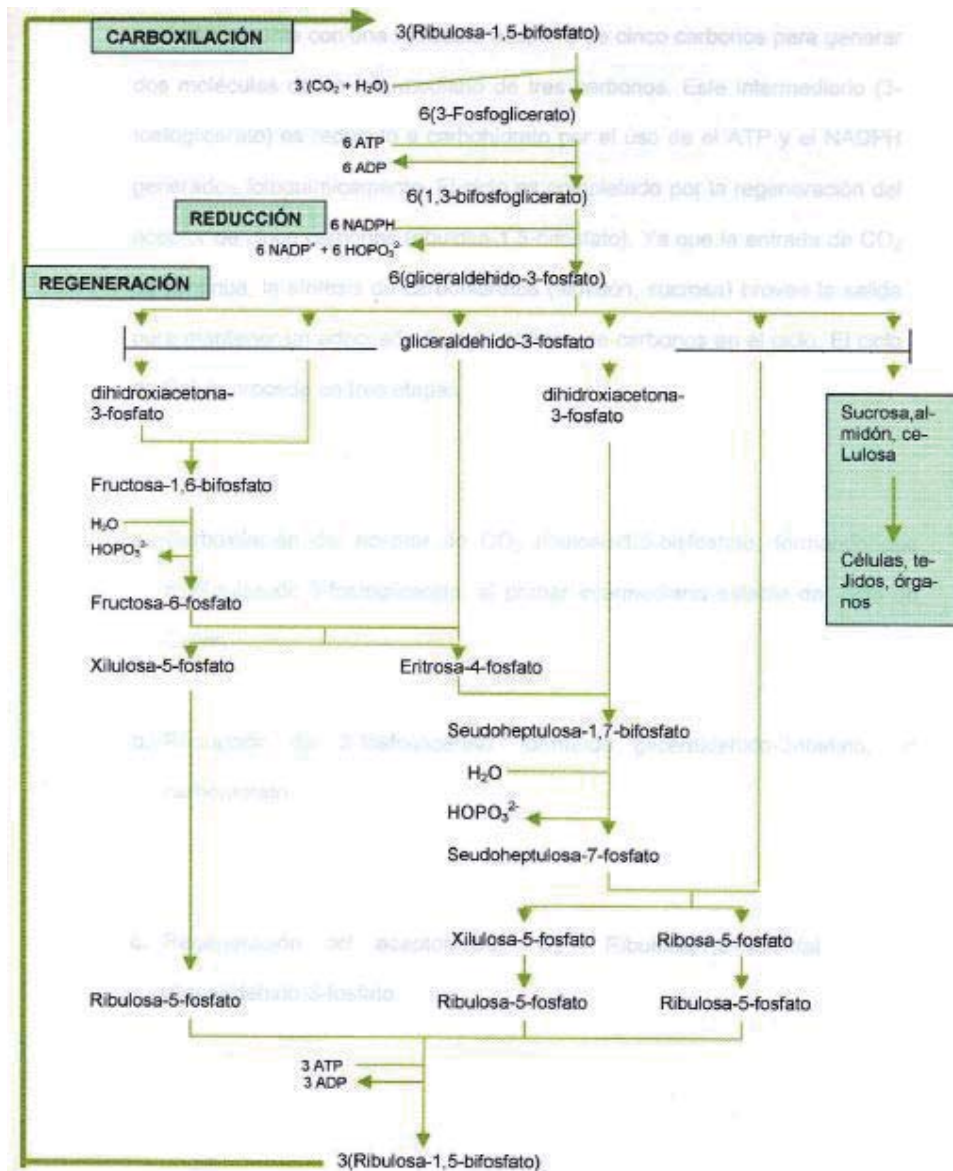
## II. FOTOSÍNTESIS

### 1. Fase Lumínica



El esquema Z de la fotosíntesis. La luz roja absorbida por el fotosistema II (PS-II) produce un fuerte oxidante y un débil reductor. La luz roja lejana absorbida por el fotosistema I (PS-I) produce un débil oxidante y un fuerte reductor. El oxidante fuerte generado por el PS-II oxida el agua mientras que el reductor fuerte producido por el PS-I reduce el  $NADP^+$ . PS-II produce electrones que reducen el complejo citocromo  $b_6f$  mientras que el PS-I produce un oxidante que oxida al complejo citocromo  $b_6f$ .  $P_{680}$  y  $P_{700}$  se refieren a la longitud de onda máxima de absorción del centro de reacción clorofílico en PS-II y PS-I, respectivamente.

## 2. Fase oscura



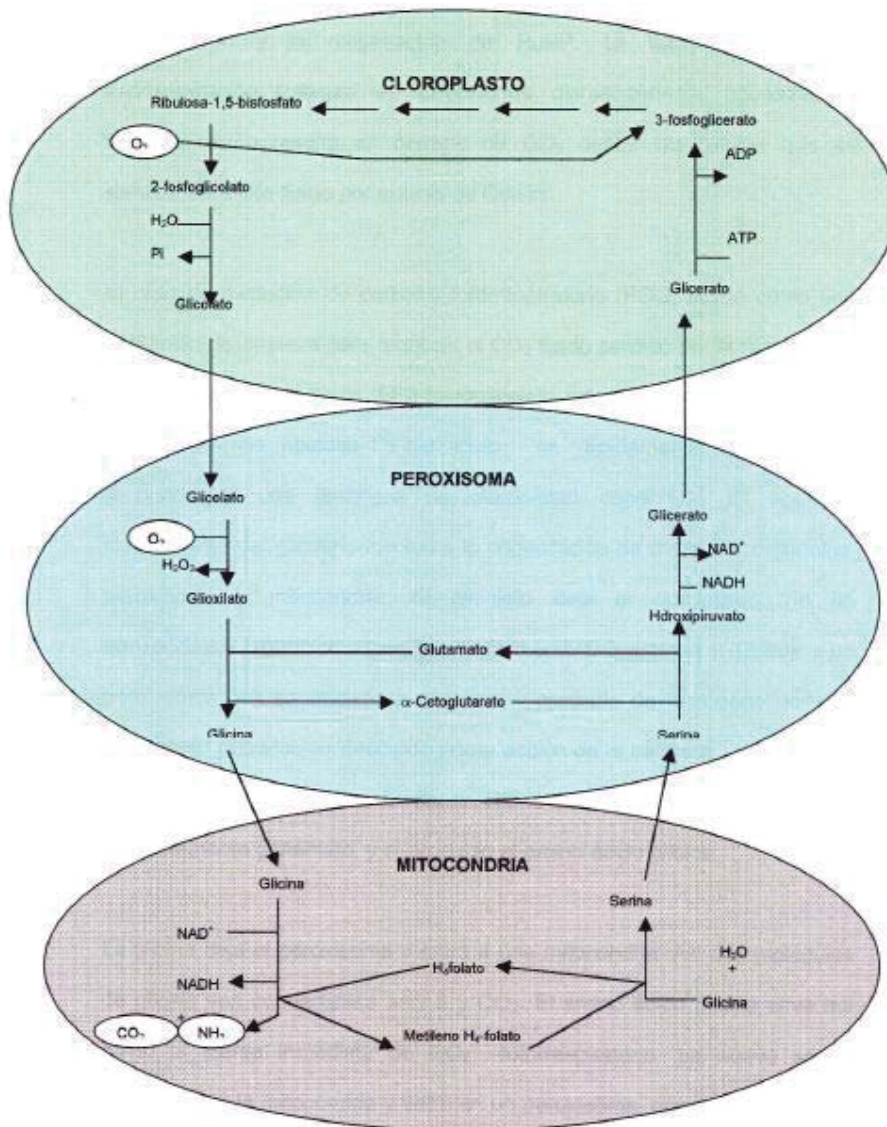
En el ciclo de Calvin,  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  del medioambiente son combinados enzimáticamente con una molécula aceptora de cinco carbonos para generar dos moléculas de un intermediario de tres carbonos. Este intermediario (3-fosfoglicerato) es reducido a carbohidrato por el uso de el ATP y el NADPH generados fotoquímicamente. El ciclo es completado por la regeneración del aceptor de cinco carbonos (ribulosa-1, 5-bisfosfato). Ya que la entrada de  $\text{CO}_2$  es continua, la síntesis de carbohidratos (almidón,



sucrosa) provee la salida para mantener un adecuado flujo de átomos de carbonos en el ciclo. El ciclo de Calvin procede en tres etapas:

- a.** Carboxilación del aceptor de  $\text{CO}_2$  ribulosa-1, 5-bisfosfato, formando dos moléculas de 3-fosfoglicerato, el primer intermediario estable del ciclo de Calvin.
- b.** Reducción del 3-fosfoglicerato, formando gliceraldehido-3-fosfato, un carbohidrato.
- c.** Regeneración del aceptor de  $\text{CO}_2$  Ribulosa-1,5-bisfosfato desde gliceraldehido-3-fosfato.

### 3. Fotorrespiración



Una importante propiedad de la rubisco, es su posibilidad para catalizar la carboxilación y la oxigenación de RuBP. La fotosíntesis y la fotorrespiración trabajan en direcciones diametralmente opuestas, la fotorrespiración resulta en pérdida de CO<sub>2</sub> desde las células que es simultáneamente fijado por el ciclo de Calvin.

El ciclo de oxidación de carbono fotorrespiratorio (PCO) Actúa como una operación de limpieza para recobrar el CO<sub>2</sub> fijado perdido por la reacción de oxigenación de la rubisco. El 2-fosfoglicolato formado en el cloroplasto por oxigenación de ribulosa-1, 5-bisfosfato es rápidamente hidrolizado a glicolato por una fosfatasa de cloroplasto específica. El siguiente metabolismo del glicolato involucra la cooperación de otros dos

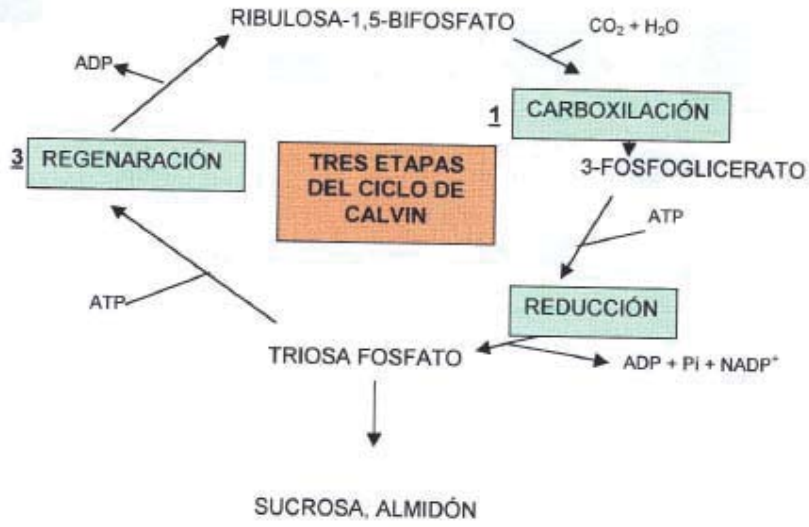
organelos: peroxisoma y mitocondria. El glicolato deja el cloroplasto vía un transportador proteínico específico en la membrana externa y difunde a un peroxisoma. Allí es oxidado a glioxilato y peróxido de hidrógeno por una oxidasa. El peróxido es destruido por la acción de la catalasa, y el glioxilato sufre una transaminación. El donador amino para esta transaminación es probablemente glutamato, y el producto el amino ácido glicina.

La glicina deja el peroxisoma y entra a una mitocondria. Allí dos moléculas de glicina son convertidas a serina y  $\text{CO}_2$ . El amino ácido glicina sirve así como la fuente inmediata de  $\text{CO}_2$  fotorrespiratorio. La nueva serina formada deja la mitocondria y entra en un peroxisoma, donde es convertida primero por transaminación a hidroxipiruvato y luego por reducción a glicerato. Finalmente el glicerato vuelve a entrar al cloroplasto, donde es fosforilado para producir 3-fosfoglicerato.

La función biológica de la fotorrespiración aún no es conocida.

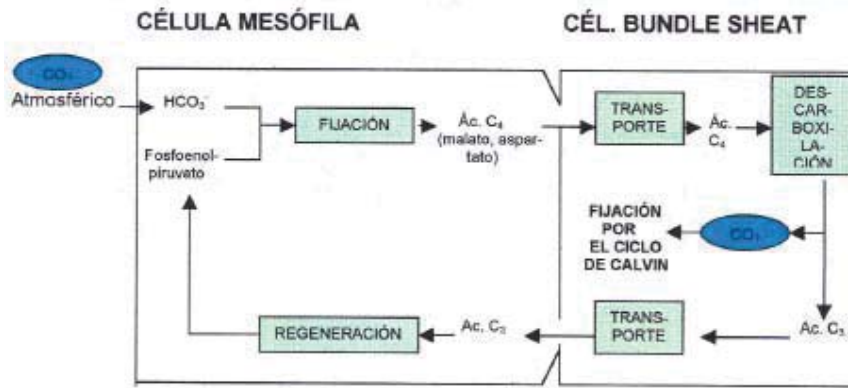
### III. PLANTAS $\text{C}_3$ , $\text{C}_4$ Y CAM

#### 1. Plantas $\text{C}_3$



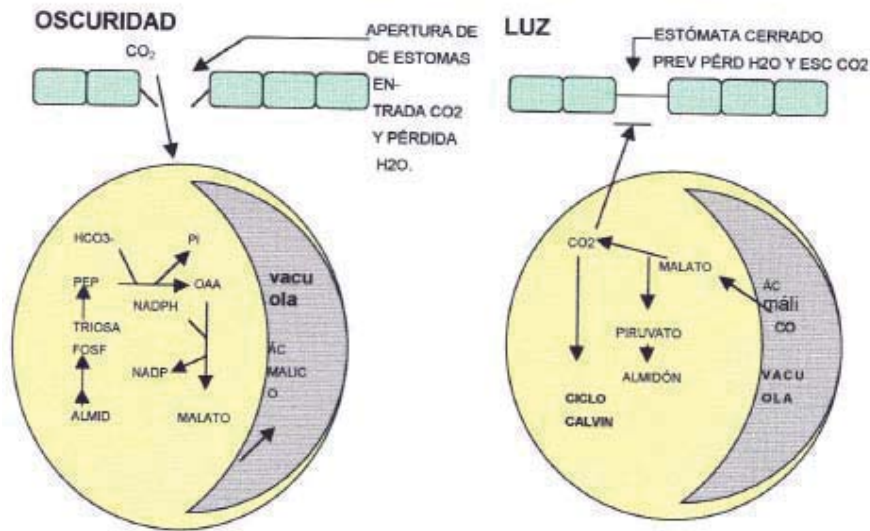
Captación de  $\text{CO}_2$  mediante la RUBISCO (Ribulosa Bifosfato Carboxilasa)

## 2. PLANTAS $\text{C}_4$



Captación de  $\text{CO}_2$  mediante el ciclo de  $\text{C}_4$  o ciclo del carbono 4 que involucra 2 tipos de células.

### 3. PLANTAS CAM



Captación y fijación de CO<sub>2</sub> en la noche u oscuridad.

Descarboxilación del malato almacenado y refijación de CO<sub>2</sub> interno en el día o bajo luz. Es decir, la formación de ácidos C<sub>4</sub> es temporal y espacialmente separado:

CO<sub>2</sub> es capturado en la noche por PEP carboxilasa en el citosol, y el malato que se forma es almacenado en la vacuola.

Durante el día, el malato almacenado es transportado al cloroplasto y descarboxilado, y el CO<sub>2</sub> liberado es fijado por el ciclo de Calvin.