

# Respuestas fitotóxica y de tolerancia de *Typha sp.* a aguas residuales asistida por ácido cítrico

## Phytotoxic and tolerance responses of *Typha sp.* citric acid assisted wastewater

<sup>1,2</sup> Amauri Ponce Hernández, <sup>1,2</sup> Candy Carranza Álvarez.

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Av. Dr. Manuel Nava Martínez #6, Zona Universitaria, 78210, San Luis Potosí, S. L. P., México, (444) 826 2300.

<sup>2</sup> Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Romualdo del Campo #501, Fraccionamiento Rafael Curiel, 79060, Ciudad Valles, San Luis Potosí, México, (481) 381-2348, 381-2349 y 382-3644.

**Palabras clave:** Aguas residuales, Fitorremediación, Quelante, *Thypha*, Tolerancia.

**Key words:** Wastewater, Phytoremediation, Chelator, *Thypha*, Tolerance.

## INTRODUCCIÓN

El agua dulce es un recurso de vital importancia, que es clave para la salud humana, seguridad alimentaria y muchos aspectos más para el desarrollo sostenible (ONU, 2018). Por lo cual, el hombre ha sabido beneficiarse de este recurso empleándolo principalmente en actividades agrícolas, abastecimiento público, industrial y generación de energía eléctrica (CONAGUA, 2018). Sin embargo, el crecimiento de la industrialización, la expansión urbana y el crecimiento económico son considerados principales factores que causan el deterioro en el medio ambiente (Bai & Imura, 2000). Al igual que otros recursos naturales el agua se ha visto amenazada, debido a las descargas de aguas residuales e industriales a los cuerpos lóticos, lo que ha provocado un aumento en concentración de elementos tóxicos en agua o sedimentos (Rodríguez, 2015). Para mitigar con esta situación se han establecido estrategias como el saneamiento adecuado de agua, que contribuyen significativamente a la reducción de contaminación (Koop & Van Leeuwen, 2017). Sin embargo, el tratamiento convencional de las aguas residuales generalmente no puede eliminar eficientemente todos los contaminantes que se encuentran en las aguas como metales pesados.

Una tecnología emergente en la restauración de ambientes acuáticos es la fitorremediación, que es considerada una de las prácticas emergentes sostenibles en las que las macrófitas

abordan la concentración, acumulación y toxicidad de metales pesados. Está bien documentado que *T. latifolia* tiene la capacidad de hiperacumular altas concentraciones de metales pesados, eliminar más del 75 % de materia orgánica, amonio, fosfato y absorber nitrógeno y fosforo de aguas residuales (Zhao *et al.*, 2016). Se ha demostrado que *T. latifolia* asistida por sustancias químicas movilizadoras presenta una mejora en la fitoextracción de metales pesados (Ahmad *et al.*, 2020). El ácido cítrico, considerado como movilizador, es un quelante que aumenta la eficiencia de fitoextracción en diversas plantas, además de que alivia el daño fisiológico y bioquímico ocasionado por los metales en plantas. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de tolerancia de plántulas de *Typha sp.* a aguas residuales bajo la asistencia de ácido cítrico.

## **METODOLOGÍA**

### *Obtención de material vegetal*

Se colectaron semillas de *typha* provenientes de la inflorescencia de la especie vegetal de plantas adultas y sanas. Las semillas fueron transportadas al Laboratorio de Investigación. Una vez que se disponían de las semillas, se sometieron a un proceso de asepsia. En el cual se adicionaron agentes químicos (fungicida, AgNO<sub>3</sub>, bacterin, NaClO, Tween 20, etanol y agua estéril) de uno en uno por un periodo de inmersión de 5 minutos bajo agitación vigorosa con cada agente químico.

### *Establecimiento del cultivo in vitro de Typha sp*

Las semillas previamente desinfectadas se sembraron en medios de cultivo Murashige & Skoog- basal medium (MS) bajo condiciones asépticas y posteriormente se transportaron a un cuarto de cultivo a condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo (24 °C y 16 / 8 hrs de luz / oscuridad).

### *Respuesta de tolerancia de Typha sp a aguas residuales*

Se colocaron 30 ml de agua residual de cada etapa de la planta de tratamiento (entrada, pretratamiento, reactor de lodos y salida) en tubos de ensaye de 20 cm. Posteriormente, se realizó el mismo procedimiento, con la única diferencia de que a cada muestra se añadió ácido cítrico 5 mM. En cada tubo se colocaron 2 vitroplantas de entre 11 y 25 cm de altura. Cada tubo fue tomado como una unidad experimental y se contó con tres unidades experimentales por cada etapa de la planta de tratamiento. Las plántulas en estas condiciones de cultivo se mantuvieron durante 15 días en el cuarto de cultivo. Como control se utilizaron plántulas en medio Hoagland's en dilución 1:40.

Al inicio y al final del experimento en las muestras de agua se registró el pH, conductividad, Sólidos totales disueltos y milivoltios (mV).

### *Evaluación de los parámetros de fitotoxicidad en plántulas expuestas a aguas residuales*

Los parámetros que se evaluaron para determinar la fitotoxicidad de las diferentes etapas de aguas residuales fueron el índice de crecimiento (IC) y el contenido de clorofila.

Después de los 15 días de exposición a agua residuales, las plántulas fueron retiradas, se pesaron y se midieron para determinar el índice de crecimiento. Esta determinación se realizó utilizando la ecuación 1, donde se consideró la talla inicial y final de la planta al término de la exposición.

$$\text{Índice de crecimiento} = \text{Talla final} / \text{Talla inicial.} \quad \text{Ecuación 1.}$$

Las plántulas de *Typha* expuestas a aguas residuales de diferentes etapas se les determinó la concentración de clorofila A, B y carotenoides inicial (día 0) y final (día 15), de acuerdo con el método propuesto por Arnon (1949). Para medir el contenido de los pigmentos, las muestras se analizaron en un espectrofotómetro. Los contenidos de clorofila y carotenoides se calcularon asimilando los resultados con las ecuaciones 2, 3, 4 5, 6 y los coeficientes de extinción ajustados dados por Lichtenthaler (1987) como sigue:

$$\text{Clorofila } a \text{ (}\mu\text{g/ml)} = 10.3 \times E_{663} - 0.98b \times bE_{644} \quad \text{Ecuación 2}$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (}\mu\text{g/ml)} = 19.7 \times E_{644} - 3.87 \times bE_{663} \quad \text{Ecuación 3}$$

$$\text{Clorofila total} = \text{clorofila } a + \text{clorofila } b \quad \text{Ecuación 4}$$

$$\text{Carotenoides totales (}\mu\text{g/ml)} = 4.2 \times E_{452.5} - \{(0.0264 \times \text{clorofila } a) + (0.426 \times \text{clorofila } b)\} \quad \text{Ecuación 5}$$

#### *Evaluación de la pérdida de la integridad de la membrana plasmática*

Para evaluar la integridad de la membrana plasmática, las raíces se sumergieron en 10 ml de la solución de azul de Evans [0.025% (w / v) en 100 mM CaCl<sub>2</sub>, pH 5,6] durante 10 min. A continuación, las raíces teñidas se lavaron tres veces con 200 ml de 100 mM CaCl<sub>2</sub> (pH 5,6). Las puntas de las raíces se observaron al microscopio óptico.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el presente estudio se espera observar un mayor desarrollo del tallo y raíz de plántulas de *Typha* expuestas a aguas residuales asistidas con ácido cítrico en comparación con plántulas expuestas únicamente a aguas residuales de las diferentes etapas de la PTAR. De igual forma se espera que plántulas expuestas a aguas residuales asistidas por ácido cítrico presenten una mayor concentración de pigmentos (clorofila *a*, *b* y carotenoides) que las plántulas expuestas solo a aguas residuales. En estudios científicos se ha reportado el potencial de quelación y promotor de crecimiento de ácido cítrico en plantas como girasol, *Brassica napus*, *Lemna minor*, *Brassica Junecia*, *Chrysopogon zizanioides*, ante la exposición a condiciones estresantes como metales pesados (Balisnomo *et al.*, 2017; Sallah-Ud-Din *et al.*, 2017). Además se ha indicado que el ácido cítrico es un quelante muy potencial en los procesos bioquímicos que aumentan la eficiencia de la fitoextracción.

## **CONCLUSIONES**

La adición de ácido cítrico promueve una mejora en las características físicas de plántulas expuestas a aguas residuales, ya que se observan una mayor longitud en tallos y raíces de

plantas expuesta a aguas residuales asistidas por ácido cítrico que en plántulas expuestas únicamente a aguas residuales. De igual forma, la concentración de pigmentos fue mayor en plántulas asistidas por ácido cítrico. De esta manera se puede pensar que el ácido cítrico mejora la tolerancia y reduce el daño fitotóxico de plántulas de *Typha sp.*

## **BIBLIOGRAFÍA**

Ahmad, R., Ali, S., Hannan, F., Rizwan, M., Iqbal, M., Hassan, Z., Akram, N.A., Maqbool, S., Abbas, F., (2017). Promotive role of 5-aminolevulinic acid on chromium-induced morphological, photosynthetic, and oxidative changes in cauliflower (*Brassica oleracea botrytis* L.). *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 24: 8814 - 8824.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in beta vulgaris. *Plant physiology*, 24 (1).

Bai, X., Imura, H., 2000. A comparative study of urban environment in East Asia: stage model of urban environmental evolution. *Int. Rev. Environ. Strat.* 1, 135-158.

Balisnomo, J.R., Cenia, M.C.B., Soriano, M.M.U., Ballesteros, F.C., Puzon, J.J.M. & Mendoza, H.D., (2017). Influence of citric acid on the uptake, bioconcentration and translocation factors of copper in *Chrysopogon zizanioides* (L.) roberly. 15th Int. Conf. *Environ. Sci. Technol.* CEST2017\_00434.

CONAGUA. (2018). Capítulo 2: Situación de los recursos hídricos. Pp. 26 – 69. En Estadísticas del agua en México 2018. Comisión Nacional del Agua. Ciudad de México, México.

Koop, S. H. A., & van Leeuwen, C. J. (2017). The challenges of water, waste and climate change in cities. *Environment, Development and Sustainability*, 19: 385–418.

Lichtenthaler, H.K., (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.*, 148: 350 - 382.

ONU. (2018). Informe de los Objetivos de Desarrollo Sustentable 2018. Naciones Unidas.. Pp. 1–40. Nueva York, EEUU.

Rodriguez-Hernández, M. C. (2015). Efectos de los mecanismos de transporte de calcio, hierro y zinc en la captación de cadmio y plomo en plantas fitorremedadoras. Tesis profesional. UASLP, Facultad de Ciencias Químicas, Ingeniería y Medicina. S. L. P., México.

Sallah-Ud-Din, R., Farid, M., Saeed, R., Ali, S., Rizwan, M., Tauqeer, H.M. & Bukhari, S.A.H., (2017). Citric acid enhanced the antioxidant defense system and chromium uptake by *Lemna minor* L. grown in hydroponics under Cr stress. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24: 17669 - 17678.

Zhao, H., Jin, Q., Wang, Y., Chu, L., Li, X., Xu, Y., (2016). Effects of nitric oxide on alleviating cadmium stress in *Typha angustifolia*. *Plant Growth Regul.*, 78: 243 - 251.