

Cuantificación de Elementos Potencialmente Tóxicos en especies vegetales de un sitio minero de Guanajuato: identificación de especies potencialmente fitorremediadoras

Ponce Gil, Elba Alejandra (1); Cruz Jiménez, Gustavo (2)

1 Licenciatura en Bioquímico, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca | Dirección de correo electrónico: ea.ponce@hotmail.com

2 Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato | Dirección de correo electrónico: cruzg@ugto.mx

Resumen

En este estudio se determinó el efecto del arsénico en el sistema radicular e hipocótilo de plántulas de *Acacia farnesiana* L. Willd, comúnmente llamada huizache yóndiro, que crece en lugares cercanos de jales mineros localizados en Xichú, Guanajuato. Las semillas se recolectaron del sitio y fueron pretratadas para escarificación. Posteriormente se germinaron en soluciones de 20, 40 y 80 ppm de As (V) como NaH_2AsO_4 y se midió la longitud de la raíz principal y hipocótilo como respuesta a la toxicidad después de 7 días de germinación. Los resultados muestran que la germinación en todos los tratamientos fue superior al 90% y que a mayor concentración de As menor es el crecimiento de raíz e hipocótilo. Se observa efecto estadísticamente significativo en el crecimiento de la raíz a partir de la concentración de 20 ppm de As con respecto al control, y diferencias significativas entre el control y la concentración de 40 ppm de As en la elongación del hipocótilo ($p < 0.05$). Por lo anterior, se sugiere a *A. farnesiana* como planta fitorremediadora en sitios contaminados menores a 20 ppm de As.

Abstract

In this study the effect of arsenic was found in the root system and hypocotyls seedlings of *Acacia farnesiana* L. Willd, commonly called "huizache yóndiro", which grows near mine tailings sites located in Xichú, Guanajuato. The seeds were collected from the site and were pretreated for scarification. Subsequently they germinated in solutions of 20, 40 and 80 ppm As (V) as NaH_2AsO_4 and the length of the primary root and stem was measured in response to the toxicity after 7 days of germination. The results show that germination in all treatments is greater than 90%, and higher concentrations of As showed lower root and hypocotyl growth. It was observed statistically significant differences in root growth between the concentration at 20 ppm of As and the control, and statistically differences between the control treatment and 40 ppm of As in hypocotyls growth ($p < 0.05$). Because of these results, it is suggested that *A. farnesiana* could be considered as a possible phytoremediator plant species for contaminated sites with concentrations lower than 20 ppm of As.

Palabras Clave

Arsénico, Fitotoxicidad, Huizache, Jales, Xichú.

INTRODUCCIÓN

Los metales o metaloides son contaminantes potenciales y cuando el sitio donde se encuentran ubicados es alterado por situaciones antropogénicas o naturales se liberan al medio. Un ejemplo común es la industria minera cuyos desechos denominados jales son fuentes de Elementos Potencialmente Tóxicos (EPTs) [1]. En organismos vivos, estos se acumulan a través de mecanismos de resistencia a nivel metabólico siendo bioacumulados y en casos mayores, biomagnificados en la cadena trófica [1,2]. Los organismos vegetales tienen mayor susceptibilidad al no contar con un sistema de expulsión. Se ha observado que cuando crecen en sitios contaminados con metales o metaloides, pueden acumular gran cantidad de éstos, hasta concentraciones en donde pueden ser consideradas como especies con capacidad fitorremediadora, un mecanismo de tolerancia involucrado es el desarrollo de mecanismos de defensa ante el estrés oxidativo de estos elementos [3].

En este estudio se tomaron muestras de jales contaminados con PTEs localizados en la mina "La Aurora" en Xichú, Guanajuato, la cual se ha explotado desde 1957. Estos jales pueden ocasionar problemas en la salud para las comunidades cercanas al sitio. Se han reportado altas concentraciones de As ($12,485 \text{ mg kg}^{-1}$) en estos jales y en menor cantidad Zn ($8,760 \text{ mg kg}^{-1}$), Pb ($1,400 \text{ mg kg}^{-1}$) y Cu ($6,668 \text{ mg kg}^{-1}$) [4]. La exposición al As puede ser aguda y crónica. El As puede ser eliminado por medio de la orina, sin embargo una exposición en agua de $10 \mu\text{m L}^{-1}$ en el ser humano provoca una serie de padecimientos que van desde cáncer en la vejiga, lesiones en la piel, disfunción renal, hepática hasta deficiencia mental en el desarrollo de los niños expuestos crónicamente [5].

En este estudio se exponen semillas *Acacia farnesiana* L. Willd, comúnmente llamada huizache yóndiro a diferentes concentraciones de As, como un ensayo de fitotoxicidad para determinar el efecto del As en *A. farnesiana* y evaluar su tolerancia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección del sitio

La mina "La Aurora" se encuentra en el estado de Guanajuato en las coordenadas geográficas; norte $21^{\circ}52'$ y sur $19^{\circ}55'$ de latitud norte y este $99^{\circ}41'$, oeste $102^{\circ}09'$ de longitud del meridiano de Greenwich.

Muestreo del sitio

Se recolectaron 6 especies vegetales sin señales de fitotoxicidad y distribución amplia en el sitio de estudio. Para su transporte, estas fueron recolocadas en bolsas marca Ziploc® para un análisis posterior de sus componentes inorgánicos, así como también, fueron colocadas en prensas para su posterior identificación. Además, se recolectaron vainas de *A. farnesiana* ya que fue la única especie que presentó semillas durante el muestreo. La identificación de las otras especies se llevó a cabo mediante la consulta bibliográfica y algunas especies que fueron difíciles de identificar, se montaron para su posterior identificación por biólogos especialistas en el área. No se presentan fotografías o resultados en este trabajo, sin embargo se destaca su importancia en el muestreo del área asignada, así como la importancia para el seguimiento del proyecto. Con respecto a la cuantificación de elementos inorgánicos, se espera la respuesta benéfica de alguna planta que proyecte el acúmulo de gran cantidad de metales y sea fitorremediadora para el sitio. Estos datos, de igual manera, no se presentan en este estudio.

Fitotoxicidad de As en semillas de *Acacia farnesiana* L. Willd

Se utilizaron semillas de *Acacia farnesiana* L. Willd, también llamado huizache yóndiro. El nombre científico de la especie se confirmó usando la referencia de Terrones y cols. [6,7] y CONABIO [8].

Las semillas recolectadas fueron escarificadas colocándolas en un vaso de precipitado con H_2SO_4 concentrado sobre una placa de calentamiento a 60°C durante 12 min, luego fueron enjuagadas con NaOH 0.1 M y agua desionizada. Posteriormente, se colocaron 20 semillas de *A. farnesiana* en cajas de petri por triplicado sobre un papel filtro con 15 mL de As a diferentes concentraciones: 0, 20, 40 y 80 ppm durante 7 días en una cámara ambiental

marca Biotronette Mark III con 12 horas luz/12 horas oscuridad, 60% - 80% de humedad y $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. En seguida de los 7 días a la exposición de As (V) como NaH_2AsO_4 , se midió con un Vernier marca UltraTech la longitud de la raíz principal, desde el ápice de la radícula hasta el cuello de las plántulas, y se midió el hipocótilo desde el cuello hasta la salida de los cotiledones.

Análisis estadístico

Se utilizó el análisis de varianza de una vía (ANOVA), para comprobar la igualdad entre los tratamientos usando el software JMPIN Versión: 4.0.3 (Academic), SAS Institute Inc. Posteriormente, se utilizó el método Tukey-Kramer HSD (Honestly Significant Difference) como test *post hoc* para determinar las diferencias entre los tratamientos ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La captación de metales del suelo depende de la especie vegetal y sus características bioquímicas, así como el contenido y disponibilidad de los metales en el suelo [9] y esto tiene efectos desde la germinación. En condiciones naturales, *A. farnesiana* es difícil de germinar como lo reportan algunos autores [10]; puesto que la dureza de su testa impide el paso del agua, esto a su vez permite almacenar la semilla sin que pierda longevidad y viabilidad [11]. En la prueba de germinación que se llevó a cabo a diferentes concentraciones de As, se observa entre 90 a 98% de germinación en todos los tratamientos siendo menor conforme aumenta la concentración de As (Ver imagen 1). Este elevado porcentaje de germinación podría deberse al proceso de escarificación, observado por Villarreal y cols. (2013) que reportan una germinación en condiciones naturales del 6% en contraste de un 80% utilizando un pretratamiento de escarificación [12]. La disminución en el porcentaje de germinación se podría deber a la exposición a una concentración elevada de metales, ya que incrementa el estrés oxidativo de la planta y la producción EROs (especies reactivas de oxígeno) en la célula vegetal produciendo apoptosis, daño al ADN, peroxidación lipídica, etc. [13], provocando una disminución en la mitosis de los meristemos en el sistema radicular y posterior disminución en la elongación del hipocótilo [14].

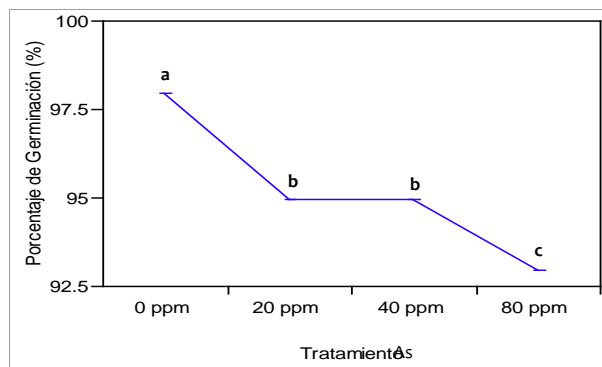


IMAGEN 1. Efecto del As (V) en la Germinación de *A. farnesiana* a diferentes concentraciones (mg L^{-1}). Los resultados de cada tratamiento representa el promedio de germinación expresado en porcentaje ($n= 3$). Las letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

En la Imagen 2, se observa una reducción en el crecimiento de la raíz principal conforme aumenta la concentración de As [15]. El análisis estadístico con ANOVA muestra diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) y la prueba de Tukey-Kramer HSD, indica diferencias entre el control y los tratamientos a diferentes concentraciones. Por lo anterior se confirma un efecto fitotóxico a partir de 20 ppm en la raíz principal de *A. farnesiana*.

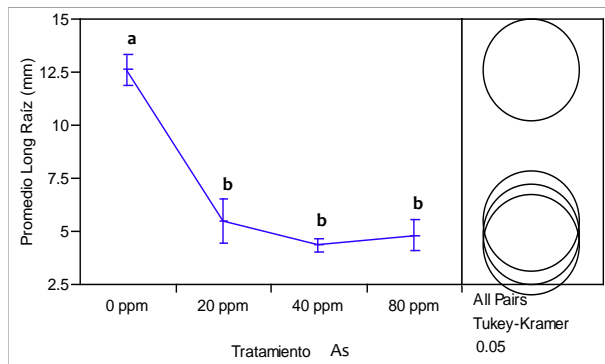


IMAGEN 2. Efecto del As (V) a diferentes concentraciones (mg L^{-1}) en la longitud de la raíz de *A. farnesiana*. Los resultados de cada tratamiento representa el promedio del crecimiento de raíz ($n= 3$). Se muestran los promedios \pm error estándar. Las letras minúsculas diferentes representan diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

En la Imagen 3, se observa el efecto del As (V) sobre el hipocótilo de plántulas de *A. farnesiana* a diferentes concentraciones. De igual manera se observa disminución en la elongación del hipocótilo. El análisis estadístico con ANOVA muestra

diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) y la prueba de Tukey-Kramer HSD indica una diferencia significativa entre el control y a 40 ppm, principalmente. Este efecto fitotóxico se observó en menor medida a 80 ppm.

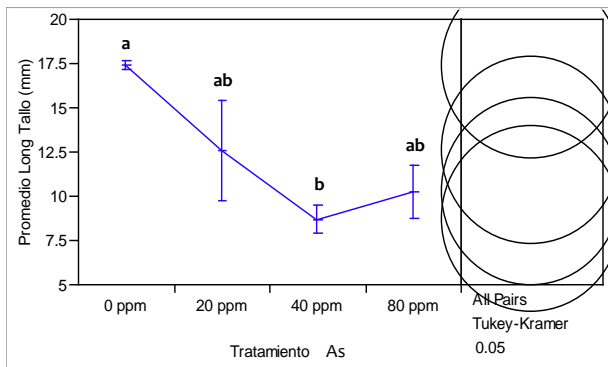


IMAGEN 3. Efecto del As a diferentes concentraciones (mg L^{-1}) en el tallo (hipocótilo) de *A. farnesiana*. Los resultados de cada tratamiento representa el promedio del crecimiento de raíz ($n=3$). Se muestran los promedios \pm error estándar. Las diferentes letras minúsculas representan diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

La fitotoxicidad provocada por la exposición de altas concentraciones de As son notorios desde el crecimiento del sistema radicular de una semilla en la etapa de germinación. En plantas dicotiledóneas, como *A. farnesiana*, secretan mucigel en la raíz, que actúa como agente quelante de iones incluyendo metales, lo que propicia la adsorción de estos afectando la estructura. El efecto del As en las plántulas se manifiesta por clorosis (Ver imagen 4) y probablemente baja producción de clorofila. Estos resultados son consistentes con los reportados por Punshon y cols. (1996) al observar cambios en la estructura entre en la radícula e hipocótilo de especies vegetales del género *Salix* cuando son expuestas a metales [16].

A pesar de la serie de consecuencias fitotóxicas del As en *A. farnesiana* observadas durante este estudio, Puga y cols. (2006), la reportan como acumuladora de metales en hojas, tallo y raíz sin observar daños aparentes. Cuantificaron el As y Zn de plantas cercanas a jales en el sur del estado de Chihuahua y entre las especies vegetales que acumularon las más altas concentraciones fueron el huizache (*A. farnesiana*), el tásate (*Juniperus deppeana*), la jarilla (*Baccharis glutinosa*) [17], además es considerada una planta As-tolerante por Armienta y cols. (2008) por lo que la hace candidata

en la fitorremediación de suelos contaminados con As [18].

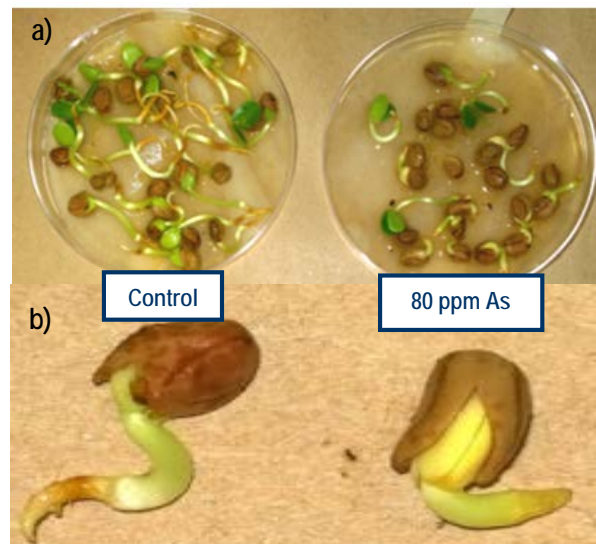


IMAGEN 4. Efecto del arsénico a 40 ppm sobre el crecimiento general de las plántulas; a) el control (izquierdo) y las plántulas con metal (derecho) muestran una disminución en biomasa y elongación. b) Se hace una comparación de una plántula del control (izquierdo) y una plántula con metal (derecho) a los 7 días de crecimiento; se observa clorosis en el hipocótilo.

CONCLUSIONES

Las concentraciones (20 ppm, 40 ppm y 80 ppm) utilizadas en este experimento tuvieron efecto negativo en la germinación, raíz principal e hipocótilo de *Acacia farnesiana* L. Willd (Huizache yóndiro), recolectada en Xichú, Guanajuato. Al observar que en este sitio *A. farnesiana*, crece de manera adecuada y en grandes cantidades, se sugiere el uso de esta especie en sitios contaminados donde las concentraciones de As son menores a 20 ppm, como se observa en este estudio.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato y a la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado por la beca otorgada.

Al laboratorio de Evaluación Toxicológica y Riesgos Ambientales (LETRA).

Al CONACyT por el apoyo recibido del proyecto de Infraestructura 2015 número 25527.

Al M.C. René Loredo Portales por su apoyo y a la Q.F.B. Claudia Karina Sánchez Sánchez por su contribución a este proyecto.

REFERENCIAS

- [1] Ramos Arroyo, J.R. & Siebe Grabach, D. (2006). Estrategia para identificar jales con potencial de riesgo ambiental en un distrito minero: estudio de caso en el Distrito de Guanajuato México. *Rev. Mex. Cienc. Geol.* 23, 54-74.
- [2] Méndez Ramírez, M. & Armienta Hernández, M. A. (2012). Distribución de Fe, Zn, Pb, Cu, Cd y As originada por residuos mineros y aguas residuales en un transecto del Río Taxco en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 29 (2), 450-462.
- [3] White, Jr. P. M., D. E. Wolf, J. G. Thomas, & C. M. Reynolds. (2006). Phytoremediation of alkylated polycyclic aromatic hydrocarbons in a crude oil-contaminated soil. *Water, Air, and Soil Pollution* 169, 207-220.
- [4] COFEMER, Federal regulatory improvement (2005). Preliminary study justifying the establishment of protected area; biosphere reserve "Sierra gorda of Guanajuato", Mexico. Recuperado de <http://www.cofemermir.gob.mx>, consultado el: 13 de julio de 2015.
- [5] Ramírez, A. V. (2013). Exposición ocupacional y ambiental al arsénico. Actualización bibliográfica para investigación científica. *Anales de la Facultad de Medicina.*, 74(3), 237-47.
- [6] Terrones Rincón, T. L., González Sánchez, C., & Ríos Ruiz, S. (2004). *Arbustivas Nativas de Uso Múltiple en Guanajuato (Vol. II)* Celaya, Guanajuato: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- [7] Terrones Rincón, T. L. & García Nieto, H. (2007). *Potencial Agroforestal con Arbustivas Nativas*. Celaya, Guanajuato: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.
- [8] CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad) (2012). Recuperado de <http://www.conabio.gob.mx>, consultado el: 13 de julio de 2015.
- [9] Prieto Méndez, J., González Ramírez, C. A.; Román Gutiérrez, A. D. & Prieto García, F. (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. 10(1), 29-44.
- [10] Juárez Argumedo, J. R., Alvarado Rodríguez, M. & Váldez Cepeda, R. D. (2001). Escarificación de semillas de mezquite (*Prosopis laevigata*) para aumentar la eficiencia en la germinación. 5as Jornadas de Investigación, Zacatecas. AP/UAGRO-01/001.
- [11] Vázquez Yañes, C., Batis Muñoz, A. I., Alcocer Silva, M. I., Gual Díaz, M. & Sánchez Dirzo, C. (1999). Árboles y arbustos nativos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Proyecto J-084-CONABIO. 269.
- [12] Villarreal Garza, J. A., Rocha Estrada, A, Cárdenas Ávila, M. L., Moreno Limón, S., González Álvarez, M. & Vargas López, V. (2013). Caracterización morfológica, viabilidad y germinación de semillas de mezquite y huizache en el noreste de México. *Rev. Inter. Journal of Experimental Botany*.82, 169-174.
- [13] Nava Ruiz, C. & Méndez Armenta, M. (2011). Efectos neurotóxicos de metales pesados (cadmio, plomo, arsénico y talio). *Arch Neurocién (Mex)*. 16(3), 140-147.
- [14] Guimarães, M. A., de Santan, T. A., Silva E. V., Zenzen, I. L. & Loureiro, M. E. (2008). Toxicidade e tolerancia ao cádmio em plantas. *Revista Trópica Ciências Agrárias e Biológicas*. 2(2), 58-68.
- [15] Esau, K. (1982). *Anatomía de las plantas con semilla*. (Reprint) Ed. Hemisferio Sur.
- [16] Punshon T. (1996). Heavy metal resistance in *Salix*. Tesis para el grado de Doctor en Filosofía. John Moores University, School of Biological and Earth Sciences, Liverpool.
- [17] Puga, S., Sosa, M., Mora, A., Pinedo, C. & Jimenez, J. (2006). Concentraciones de As y Zn en vegetación nativa cercana a una presa de jales. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 22(2), 75-82.
- [18] Armienta, M. A., Ongley, L. K., Rodríguez, R., Cruz, O., Mango, H., & Villaseñor G. (2008). Arsenic distribution in mesquite (*Prosopis laevigata*) and huizache (*Acacia farnesiana*) in the Zimapán mining area, México. *Geochem. Explo., Environ., Anal.* 8, 1-7.