

EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE LA ACUMULACIÓN DE CROMO EN EL BUCHÓN DE AGUA (*Eichhornia crassipes*)

EVALUATION OF THE KINETICS OF ACCUMULATION OF CHROMIUM IN WATER HYACINTH (*Eichhornia crassipes*)

AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE ACUMULAÇÃO DE CROMO EM JACINTO DE ÁGUA (*Eichhornia crassipes*)

RICARDO BENÍTEZ¹, VÍCTOR CALERO², ENRIQUE PEÑA², JAIME MARTÍN¹

RESUMEN

Eichhornia crassipes es una planta de rápido crecimiento distribuida en casi todos los países tropicales, que puede tolerar condiciones de contaminación por metales o por eutricación de cuerpos de aguas lénticos y lóticos. Esta planta se ha convertido en un problema ambiental; no obstante, ha despertado interés en el tratamiento de la contaminación por metales en suelos agrarios y cuerpos de agua.

Recibido para evaluación: 02/02/2011. Aprobado para publicación: 24/5/2011

1 Grupo de Investigación Química de Productos Naturales; Departamento de Química; Universidad del Cauca.

2 Grupo de Investigación Biología vegetal aplicada; Departamento de Biología; Universidad del Valle

Correspondencia: rbenitez@unicauca.edu.co

*La toxicidad de los metales es un serio inconveniente en esta motivación, ya que influye en la capacidad de acumulación y la transmisión en la cadena trófica. En esta investigación se evaluó el comportamiento de las tasas de acumulación de cromo en la macrófita acuática *Eichhornia crassipes*, a concentraciones de 30, 60 y 90 mg/L, utilizando un diseño experimental aleatorio, con control y tres repeticiones por nivel. Los estudios llevados a cabo en acuarios de vidrio, evidenciaron sitios de acumulación de cromo en la planta, estableciéndose la cinética de acumulación.*

ABSTRACT

*Eichhornia crassipes is a fast growing plant distributed in almost all tropical countries, which can tolerate conditions of metal contamination or eutrophication of bodies of lentic and lotic waters. This plant has become an environmental problem, however, has sparked interest in the treatment of metal pollution in agricultural soils and water bodies. The toxicity of metals is a serious problem with this reasoning, since it affects the storage capacity and transmission into the food chain. In this study we evaluated the behavior of the rates of accumulation of chromium in aquatic macrophyte *Eichhornia crassipes*, at concentrations of 30, 60 and 90 mg/L, using a randomized experimental design with control and three replicates per level. Studies carried out in glass aquaria, showed sites of accumulation of chromium in the plant, establishing the kinetics of accumulation.*

RESUMO

*Eichhornia crassipes é uma planta de rápido crescimento distribuídas em quase todos os países tropicais, que podem tolerar condições de contaminação por metais ou de eutrofização das massas de águas lênticos e lóticos. Essa planta tornou-se um problema ambiental, no entanto, despertou o interesse no tratamento da poluição por metais em solos agrícolas e corpos d'água. A toxicidade dos metais é um problema sério com esse raciocínio, uma vez que afeta a capacidade de armazenamento e transmissão na cadeia alimentar. Neste estudo avaliou o comportamento das taxas de acúmulo de cromo em macrófitas aquáticas *Eichhornia crassipes*, em concentrações de 30, 60 e 90 mg/L, utilizando um delineamento inteiramente casualizado, com controle e três repetições por nível. Estudos realizados em aquários de vidro, apresentaram sítios de acumulação de cromo na planta, que institui a cinética de acumulação.*

PALABRAS CLAVES:

Eichhornia crassipes, Buchón de agua, Cinética, Acumulación, Cromo.

KEYWORDS:

Eichhornia crassipes, Water hyacinth, Kinetics, Accumulation, Chrome.

PALABRAS-CHAVE:

Eichhornia crassipes, jacinto de água, cinética, acumulação, o Chrome.

INTRODUCCIÓN

Los metales pesados son un grupo de elementos químicos que presentan una densidad relativamente alta y cierta toxicidad para el ser humano. Sin embargo, algunos de ellos son esenciales en dosis óptimas para el buen funcionamiento metabólico de algunos organismos y su ausencia produce efectos negativos [1]. El grado de toxicidad de estas sustancias no solo depende del tipo de metal y de su concentración, sino que tiene una gran incidencia la forma química o física en que se encuentre, ya que esto regula su disponibilidad y por tanto su efecto tóxico [2-3]. Muchos autores distinguen a ciertos metales como elementos traza que pueden causar efectos biológicos a bajas concentraciones [4]. En el caso del cromo (Cr), es un metal que se encuentra presente en los procesos de producción industrial tales como aleaciones con otros metales, pigmentos para pinturas, producción de papel, de cuero, y de otros materiales [5]. Los efectos de la de la exposición al cromo incluyen irritaciones y ulceraciones en la piel, deficiencias renales y hepáticas y daños en el sistema circulatorio y el tejido nervioso bajo exposiciones muy prolongadas [6-8].

Ciertas plantas han demostrado la capacidad de absorber, concentrar y transformar metales pesados en concentraciones que pueden ser perjudiciales para ciertas especies, a través de su sistema radicular y se conocen como plantas hiperacumuladoras [4,9]. El buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) Es una planta acuática perenne de crecimiento herbáceo con tamaño desde unos pocos centímetros hasta un metro de altura. Las hojas son color verde brillante aproximadamente de 20 cm de largo y 5 a 15 cm de ancho, unidas al pecíolo en estructura esponjosa, las raíces son oscuras y constituyen hábitat para invertebrados [10]. El buchón absorbe directamente los nutrientes del agua, lo que lo convierte en un excelente purificador de aguas residuales. Es originario de la amazonia brasilera y actualmente se encuentra distribuido en la mayoría de los países tropicales y subtropicales. Se desarrolla en toda clase de hábitat de agua dulce: humedales, lagos, lagunas, ríos, diques y tolera precipitaciones anuales entre 820 y 2700 mm [9].

El buchón de agua ha sido relativamente bien estudiada por su capacidad en procesos de filtración de aguas contaminadas, y por su facilidad de proliferación en

ambientes eutroficados [11]. Se ha demostrado que el sistema de raíces asociado con microorganismos favorece la acción de bioacumulación de metales, reteniendo cadmio, cromo, y arsénico en tejidos, mediante acomplejamiento de aminoácidos presentes en la célula con el metal pesado, previa absorción a través de las raíces [12]. Se sugiere además un mecanismo a nivel de las raíces consistente en la producción de sólidos que precipitan el metal [11,13].

En este estudio se evaluó la dinámica de la absorción de cromo en el Buchón de agua (*Eichhornia crassipes*), y su relación con su capacidad de acumulación en los diferentes órganos de la planta.

MÉTODO

Recolección de plantas

Se colectaron manualmente plantas jóvenes de buchón de agua de la Laguna de Sonso, ubicada en el margen derecha del río Cauca (3° 53' N, 76° 21' W), en jurisdicción del municipio de Buga.

Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Morfología Vegetal, de la Sección de Botánica, de la Universidad del Valle. Inicialmente se separaron hojas, tallos y raíces; y se pesaron individualmente, posteriormente se secaron a 70 °C por 72 hrs en el horno convencional de secado de material vegetal del laboratorio del herbario CUVG. Una vez secas, se pesaron nuevamente, luego se cortaron en trozos pequeños con tijeras de jardinería y se analizaron por espectrofotometría de absorción atómica en horno de grafito por parte del personal de Química de Productos Naturales de la Universidad del Cauca.

Preparación y montaje de los tratamientos.

Se prepararon tres soluciones de Cromo a concentraciones de 30, 60 y 90 mg/L con tres repeticiones, para un total de nueve unidades experimentales con exposición al metal y un tratamiento. Cada preparación se hizo con agua destilada y se le añadió 300 mL de solución nutritiva Hoagland. Las soluciones de 30, 60 y 90 mg/L adicionadas a los acuarios se prepararon disolviendo 84,8; 169,7 y 254,6 mg de dicromato de potasio en agua respectivamente, hasta completar 1 L

de solución. Plantas de tamaño similar se aclimataron por dos semanas en acuarios de vidrio de 30 cm de ancho, 50 cm de longitud y 40 cm de alto, llenos con 18 L de agua reposada y 300 mL de solución de Hoagland completa. Para el ensayo de bioacumulación se muestreó 20 mL de agua de cada uno de los acuarios en botellas plásticas, a las veinticuatro, setenta y dos, ciento veinte y doscientas cuarenta horas.

Estimación de la bioacumulación en la planta

Transcurridas 360 horas las plantas se separaron en hojas, raíz y tallo y se determinó el peso húmedo de cada tejido, luego se secaron y se midió el peso seco de las muestras que serían analizadas para establecer el contenido de metal acumulado en cada tejido. La cantidad de metal removido del medio por unidad de biomasa se determinó con la ecuación $q = v (C_i - C_f) / S$, donde q : cantidad de metal removido por unidad de biomasa; v : volumen de la solución; C_i y C_f son las concentraciones de metal inicial y final en el medio de cultivo en tiempo cero y tiempo de 360 horas y S es la cantidad de Buchón en peso seco [1]. Igualmente se calculó la tasa de acumulación mediante la ecuación $V = (C_i - C_f) / N t$, donde V : tasa de acumulación, C_i y C_f son las concentraciones de metal inicial y final a tiempo cero y tiempo de 360 horas; N es la cantidad de buchón de agua en peso seco; y t es el tiempo de exposición. [15-16]

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa Statistica v 6.0. La distribución normal de los datos se analizó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianzas mediante el test de Shapiro-Wilks. Los datos de acumulación de Cr se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis considerando los datos de variables múltiples independientes y de comparación múltiple y los de fluorescencia fotosintética, fueron comparados mediante la prueba de Wilcoxon.

RESULTADOS

Los resultados relación de acumulación de metal con respecto a las concentraciones iniciales mostró que a mayor concentración de metal en el medio hay mayor acumulación en los tejidos (Figura 1). Igualmente se observó que a mayor tiempo de exposición, disminuye

la concentración de metal en los tejidos. Se observan dos fases, una fase de mayor acumulación de Cr en el tejido del buchón durante las primeras 24 horas y una fase de disminución progresiva de la tasa de acumulación del metal con el paso del tiempo (figura 1). El análisis estadístico mediante la prueba de comparación múltiple mostró diferencias significativas ($p=0.0001$) en la tasa de acumulación de plantas de buchón en los medios de exposición a 30 ppm (Figura 2).

La concentración de metal entre los tejidos aéreo y radicular de buchón no mostró diferencias significativas ($p=0.20$) (Figura 3). La tabla 1 muestra los valores promedio de metal acumulado en la biomasa de buchón

Figura 1. Relación entre Cr acumulado en el buchón expuesto 30, 60 y 90 mg/L y el tiempo de exposición.

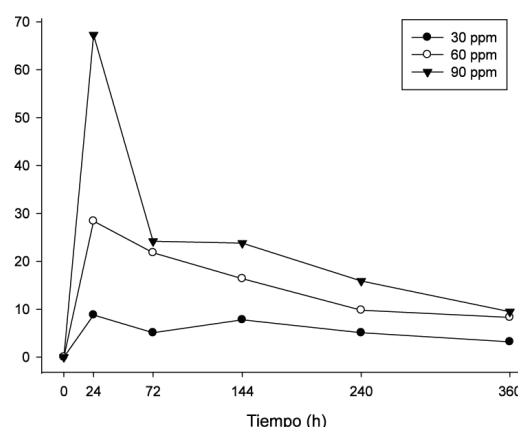


Figura 2. Comportamiento de la acumulación de Cr en los tres tratamientos

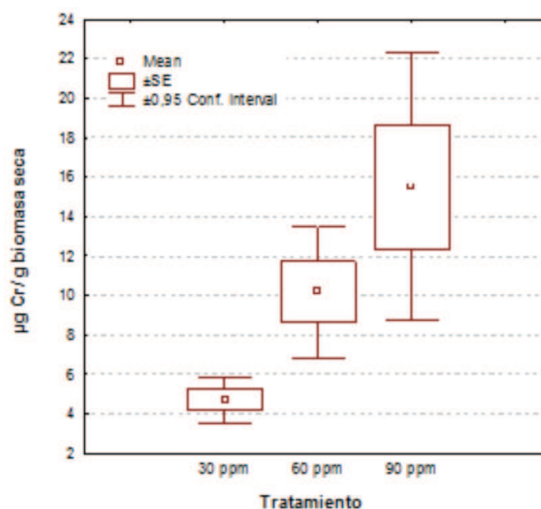
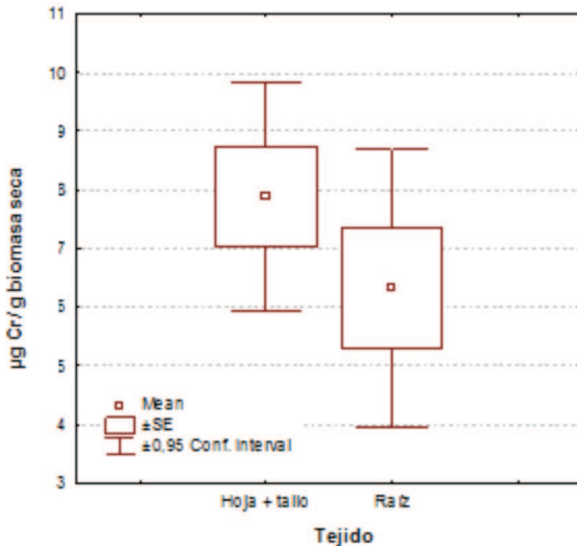
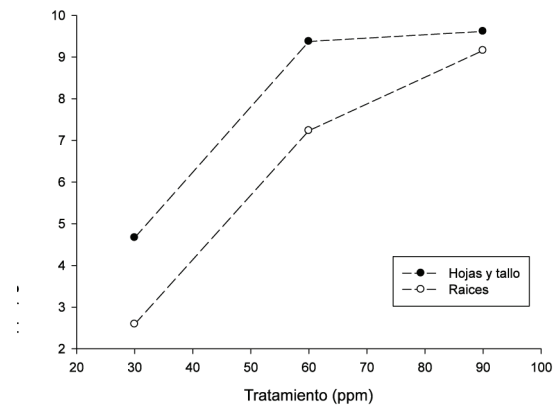


Figura 3. Análisis estadístico de la acumulación en los tejidos del buchón**Tabla 1.** Valores de “remoción promedio (q)” y “tasa promedio remoción (V)” en buchón expuesto a diferentes concentraciones de Cr en el tiempo.

Concentración inicial (mg/L)	Tiempo de exposición (h)	q (mg Cr/g buchón)	V (mg Cr/g Buchón)
30	24	8,8	0,0204
30	72	5,1	0,0039
30	144	7,8	0,0030
30	240	5,1	0,0012
30	360	3,2	0,0005
60	24	28,4	0,0658
60	72	21,8	0,0168
60	144	16,4	0,0063
60	240	9,8	0,0023
60	360	8,3	0,0013
90	24	67,3	0,1559
90	72	24,2	0,0187
90	144	23,8	0,0092
90	240	15,9	0,0037
90	360	9,5	0,0015

en tejido aéreo (tallos y hojas) y Radicular. La correlación entre la acumulación de Cr en el buchón y las concentraciones de exposición inicial de los tratamientos mostró un comportamiento de tipo acumulador (Figura 4). El rango de valores de “q” promedio (mg Cr/g peso seco) fue de 3.627, 8.303 y 9.386 para los tratamientos con 30 ppm, 60 ppm y 90 ppm respectivamente.

Figura 4. Comportamiento de la concentración de Cr en los tejidos de buchón

El aumento de la concentración del metal en el tejido de la planta correspondió a una disminución en el medio, que genera posiblemente cambios en el gradiente osmótico; esta exposición tan prolongada generalmente aumenta la condición de estrés de la planta incrementando su fitness, que podría conducir a liberar parte de la carga de metal al medio, manteniendo con ello la regulación homeostática mediante mecanismos que permiten una menor afinidad de los sitios de adhesión por los metales o empleando mecanismos que detectan de manera rápida la presencia del metal, facilitando su excreción activa, o menor permeabilidad de la membrana celular.

El patrón general de acumulación de metales en diversas plantas y grupos de algas, presenta una fase rápida independiente de la energía metabólica en que los cationes entran por transporte pasivo o se adhieren a la superficie celular y una fase lenta dependiente de energía metabólica, donde ocurre la acumulación intracelular [17]. En esta investigación se alcanzó la máxima acumulación de Cr en las primeras 24 h (tiempo mínimo evaluado), mientras que Mohanty ha reportado un porcentaje máximo de remoción a las 4 h y que después del máximo, la acumulación se mantiene constante [18].

Cinética de la acumulación. La correlación entre el metal acumulado y las concentraciones iniciales de exposición (Tratamientos) a lo largo del tiempo, exhibida en la Figura 5, mostró un patrón exponencial o de tipo excluyente de acumulación del Cr durante las primeras 24 h. Estos resultados sugieren que durante este tiempo el metal se está acumulando principalmente por adsorción en las raíces. Con el paso del tiempo parte del Cr

migra hacia la parte aérea, activando mecanismos de detección y excreción del metal, facilitando con ello el sustento del equilibrio osmótico entre la planta y el medio, evidenciado con la disminución de la cantidad de metal en el buchón y la correlación lineal entre la cantidad de Cr en el buchón y en el medio. Aun así, no se puede descartar el efecto del pH y la presencia de los iones de las sales de la solución de Hoagland sobre la acumulación del Cr en especial del fósforo que se ha demostrado favorece la insolubilidad de los metales [4].

La cinética de acumulación evaluada en términos de la tasa de acumulación "V" (Figura 6) presenta un comportamiento similar al de "q". Esta se incrementó a lo largo de las concentraciones iniciales de los tratamientos. El análisis de los datos mostró diferencias significativas ($P=0.0273$) entre 30 mg/L y 90 mg/L. (Figura 7)

Harrison [15] propuso que cuando el transporte de iones se realiza por difusión pasiva, la velocidad de transporte es directamente proporcional a la concentra-

ción externa y, en contraste, el transporte pasivo facilitado por proteínas y el activo presentan saturación de los transportadores de membrana cuando la concentración externa del ion aumenta. La relación entre estas dos variables es descrita gráficamente mediante una asíntota similar al patrón de Michaelis-Menten propuesto para la cinética enzimática. En la Figura 6 se observa que la tasa de acumulación de Cr aumenta de forma exponencial con respecto a la concentración inicial. Estos datos sugieren que la difusión pasiva es tal vez el mecanismo de más aporte en la acumulación de Cr durante las primeras 24 h, por adhesión a la pared celular en el espacio apoplástico. Luego de las 24 h es posible que se presente migración hacia el citoplasma y después hacia la parte aérea, tal vez por la vía xilemática; aquí es importante que el Cr pueda ser removido del tejido del buchón y quizá se presente una fase de transporte activo a través de canales proteicos o que esté mediada por transportadores específicos, con gasto energético como lo proponen otros autores [2,4].

Acumulación del Cr en los tejidos. Se analizaron independientemente las partes aéreas (tallo y Hojas) y radicular del buchón para saber si existe migración del metal hacia tallos y hojas y si existen diferencias con respecto a la raíz. El análisis del buchón se realizó luego de 360 horas de exposición. Los resultados en términos de "q" se muestran en la Tabla 2.

El análisis estadístico, efectuado mediante la prueba de Kruskal-Wallis, mostró que no hay diferencias significativas en la acumulación de Cr con respecto a la parte aérea y las raíces del buchón ($p=0.200$) (Figura 8)

Figura 5. Relación entre la concentración inicial de Cr y la cantidad de Cr acumulado por Buchón, a diferentes tiempos de exposición.

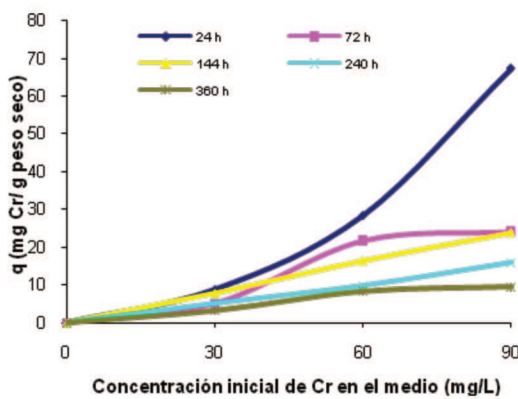


Figura 6. Relación entre la tasa de acumulación "V" de Cr de Buchón y la concentración inicial de los tratamientos a diferentes tiempos.

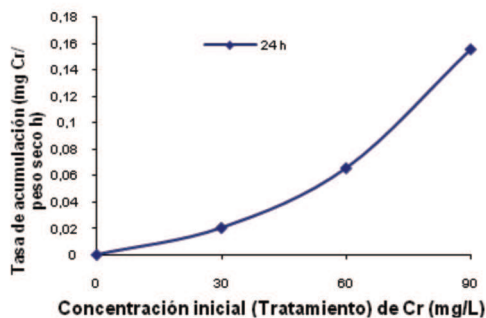


Figura 7. Análisis de varianza de la tasa de acumulación de Cr durante 24 h.

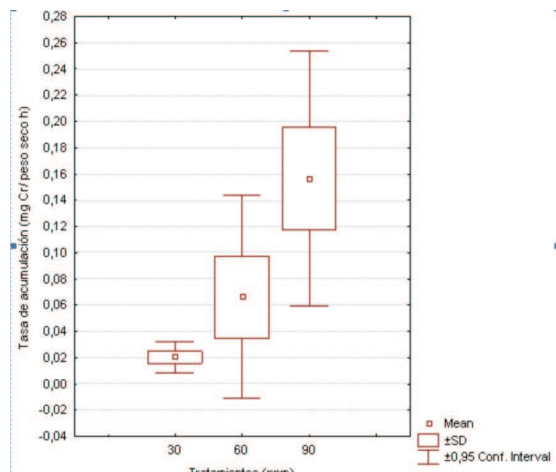
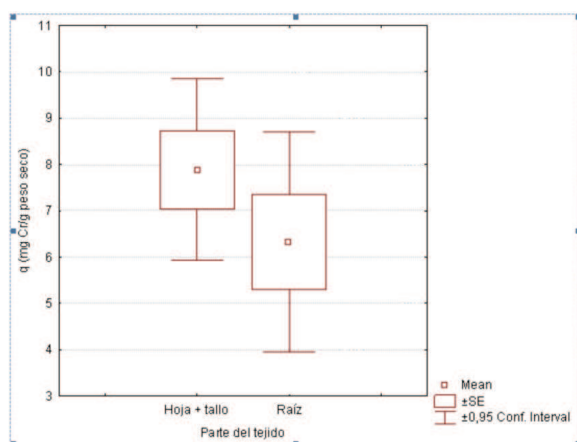


Tabla 2. Acumulación (q) de Cr en los tejidos en relación a los tratamientos

Parte del tejido	Concentración inicial (mg/L)	q promedio (mg Cr/g peso seco)
Hoja + Tallo	30	4,665
Hoja + Tallo	60	9,373
Hoja + Tallo	90	9,615
Raíz	30	2,590
Raíz	60	7,233
Raíz	90	9,157

Figura 8. Análisis estadístico entre la acumulación en las hojas y el tallo y las raíces del buchón

CONCLUSIONES

Este estudio mostró que el buchón de agua *E. crassipes* bajo condiciones de pH neutro y medios de exposición de 90 mg/L de Cr, acumuló cantidades significativas del metal, hasta de 67.3 mg Cr/ g de biomasa seca, un valor específicamente alto respecto a los reportados en la literatura con la misma planta y el mismo metal.

La concentración de Cr acumulado aumentó en el rango de 30 a 90 mg/L con relación a la concentración inicial a la que se expuso *E. crassipes* y a su vez, presentó una acumulación máxima a las 24 h de observación.

Aunque la dinámica de acumulación en tallos, hojas y raíces es posible que cambie con respecto al tiempo, la cantidad de Cr acumulado en tallos y hojas luego de 360 h de exposición es estadísticamente igual al Cr acumulado en la raíz, siendo en esta parte de la planta donde ocurre la mayor acumulación inicial la cual se distribuye posteriormente.

AGRADECIMIENTOS.

Los autores Benítez y Martín agradecen a la Universidad del Cauca por la infraestructura para el desarrollo del proyecto.

REFERENCIAS

- [1] SCHNOOR, J.L., Phytoremediation. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center. Technology Evaluation Report: TE-98-01., 1997, p 43
- [2] CHOJNACKA, K. Biosorption and bioaccumulation - the prospects for practical applications. Environment International., 36, 2010, p. 299–307
- [3] SUSARLA, S. MEDINA, V.F. and McCUTCHEON, C.S., Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. Ecological Engineering 18(5), 2001, p. 647–658
- [4] POSCHENRIEDER, C. and BARCELÓ, J., Estrés por metales pesados en: La ecofisiología vegetal: Una ciencia de síntesis. RIGOSA, M. J., N. PEDROL & A. SÁNCHEZ-MOREIRAS (Eds). Paraninfo S. A. 2003, p. 413-442.
- [5] VAJPAYEE, P., *et al.*, Chromium (VI) accumulation reduces chlorophyll biosynthesis, nitrate reductase activity and protein content in *Nymphaea alba* L. Chemosphere 41, 2000, p. 1075-1082.
- [6] CHANG H.R, TSAO D.A. and TSENG W.C. Hexavalent chromium inhibited the expression of RKIP of heart in vivo and in vitro. Toxicology in vitro 25(1), 2011, p. 1-3
- [7] NAJA, G., MURPHY, V. and VOLESKY B. Biosorption, Metals. Wiley Encyclopedia of Industrial Biotechnology. John Wiley & Sons, 2010, p. 552 – 559.
- [8] SHANKER A.K., *et al.* Chromium toxicity in plants. Environment International., 31, 2005, p. 739 – 753.
- [9] PEÑA, E.J., PALACIOS, M.L. y OSPINA-ÁLVAREZ, NL. Algas como indicadores de Contaminación. Ed. Universidad del Valle. 2006, p. 35-48.
- [10] GOMEZ-SCHOUBEN, C. Aprovechamiento del buchón de agua *Eichornia crassipes* como enmienda orgánica en el Ecoparque Lago de las Garzas. [Tesis de Maestría en Biología]. Cali (Colombia): Universidad del Valle, 2005, p. 116.
- [11] HIDALGO, J.C., MONTANO, J.J. y ESTRADA, M.S. Recientes aplicaciones de la depuración de aguas

- residuales con plantas acuáticas. Revista teoría, 14 (001), 2005, p. 17-25.
- [12] NOVOTNY, V and OLEM, H., Water quality: prevention, identification and management of diffuse pollution. Van Nostrand Reinhold, New York, 1994, p. 1054.
- [13] BURKE D. WEIS J.S. and WEIS P., Release of metals by the leaves of the salt marsh grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. Estuarine Coastal and Shelf Science, 51, 2000, p. 153-159.
- [14] STIRK, W.A. and STADEN, J.V., Removal of heavy metals from solution using brown seaweeds. Botanica Marina, 43, 2000, p. 467-473
- [15] HARRISON, P. J. 1998. Determining phosphate uptake rates of phytoplankton. en: Experimental Biology: A laboratory manual. LOBBAN, C. S., D. J. CHAPMAN & B. P. KREMER (Eds). Cambridge. E. U. A. 1998 p 186-195.
- [16] MEENA A.K. *et al.*, Removal of heavy metal ions from aqueous solutions using chemically (Na₂S) Treated granular activated carbon as an absorbent. Journal of Scientific & Industrial Research. 69, 2010, p. 449-453.
- [17] REED, R. H. and GADD, G.M.. Metal tolerance in eukaryotic and prokaryotic algae. en: SHAW, A. J. (Ed). Heavy metal tolerance in plants: Evolutionary aspects. CRC press. Inc. Boca Raton, Florida. 1989, p. 105-118
- [18] MOHANTY, K.J. *et al.*, 2005. Biopsorption of Cr (VI) from aqueous solutions by *Eichhornia crassipes*. Chemical engineering journal, (177), 2005, p. 71-77.