

Efecto del stress por plomo en *Ludwigia peploides* e *Hydrocotyle ranunculoides*

SILVANA AUGUET¹, SILVANA ARREGHINI¹, ROBERTO JOSÉ MARÍA SERAFINI¹, ANA ARAMBARRI², ALICIA F. DE IORIO¹

¹ Cátedra de Química Analítica, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453, C1417DSE, CABA

² Área de Botánica, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, Calle 60 y 119, CC 31, (1900) La Plata

E-mail: auguet@agro.uba.ar

Abstract. Wetlands usually provide a natural mechanism to diminish the transport of toxic compounds to other compartments of the ecosystem by immobilizing heavy metals and storing them below ground in roots and/or soil. The aim of this study is to evaluate the Pb uptake and translocation into two aquatic plants - *Ludwigia peploides* (Kunth) P.H. Ravenand and *Hydrocotyle ranunculoides* L.f. - and to quantify potential histological changes by metal action. For this, an assay in greenhouse was carried out in summer (November to April). Lead, as $Pb(NO_3)_2$, was added to the sediments attaining concentrations of 300 μg Pb/g sediment (T300) and 900 μg Pb/g sediment (T900). These treatments were tested against controls without Pb addition and KNO_3 addition for quantifying nitrate effect (C300 and C900). The concentration of Pb was determined at root, stem, leaf, water and at different sediment fractions. Histological sections were prepared to determine morphometric parameters. More than 80% of Pb was associated with little mobile sediment fraction (organic matter-sulfide and oxides of Fe and Mn). Both species, *H. ranunculoides* and *L. peploides*, showed a significant increase in root Pb concentration at treatment with Pb addition ($p < 0.01$). Lead concentration of stem and leaf of *H. ranunculoides* increased at T300 treatments ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively) and T900 ($p < 0.01$) with respect to control treatments. An increase of Pb concentration in stem and leaf of *L. peploides* was only observed at T900 ($p < 0.01$). In polluted sediments, inner cortex cells of *H. ranunculoides* root showed less height ($p < 0.01$) and width ($p < 0.01$), and a decrease in porosity ($p < 0.05$) with loss of parenchymatous tissue was observed. The measured parameters of *L. peploides* were similar to control. Since reducing environments favour Pb immobilization, the decrease of parenchymatous tissue in *H. ranunculoides* could contribute to its retention in the rhizosphere. The absence of morphological alterations in *L. peploides* suggests that the studied phenotype could be tolerant to the assay conditions.

Keywords: phytoremediation, aquatic plants, lead, light microscopy, morphological alterations.

Resumen. La vegetación riparia provee mecanismos para la atenuación del transporte de contaminantes a otros compartimentos de los ecosistemas acuáticos, inmovilizando metales pesados en raíces y/o sedimentos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la tolerancia de dos plantas acuáticas nativas - *Ludwigia peploides* (Kunth) P.H. Raven e *Hydrocotyle ranunculoides* L.f.- expuestas a dos concentraciones elevadas de plomo en sedimento, analizar la biodisponibilidad y partición del metal agregado, e identificar posibles alteraciones morfológicas en raíz. Se realizó un ensayo en invernáculo durante seis meses. Se llevaron a cabo dos tratamientos a los que se les agregó $Pb(NO_3)_2$ a fin de obtener una concentración de 300 μg Pb/g sedimento (T300) y 900 μg Pb/g sedimento (T900). Ambos tratamientos se contrastaron con sus respectivos controles (C300 y C900, sin la adición de metal pero con el agregado de KNO_3 a fin de contrarrestar el efecto del agregado de nitrato con la sal de Pb). Al finalizar el ensayo se determinó la concentración de Pb en raíz, tallo, hoja, agua y en las diferentes fracciones de sedimento. Se realizaron preparados histológicos para determinar parámetros morfométricos. En los tratamientos con agregado de Pb, el metal se asoció principalmente a las fracciones materia orgánica-sulfuros (42%) y óxidos de hierro y manganeso (40%), y en menor medida a las fracciones carbonatos (9-12%), residual (5-8%) e intercambiable (1-3%). El agregado de metal produjo un incremento significativo de la concentración de Pb en todas las estructuras, siendo la concentración promedio en raíz muy superior. En ambas especies

el agregado de metal produjo un incremento significativo de la concentración de Pb en la raíz ($p < 0,01$) respecto a los controles. En *L. peploides* sólo se observó un aumento en las concentraciones de Pb en el tallo y en la hoja en el tratamiento T900 ($p < 0,01$). Las concentraciones de Pb en tallo y hoja de *H. ranunculoides* aumentaron significativamente en los tratamientos T300 ($p < 0,05$ y $p < 0,01$, respectivamente) y T900 ($p < 0,01$ en ambas estructuras). En *L. peploides* los parámetros morfométricos medidos fueron semejantes en T900 con respecto a los tratamientos control. En *H. ranunculoides* para T900 se observó una disminución en el diámetro total de la raíz ($p < 0,01$) y de la rizodermis ($p < 0,05$). En los sedimentos contaminados con Pb las células de la corteza interna presentaron menor altura ($p < 0,01$) y ancho ($p < 0,01$) y se observó una disminución significativa en la porosidad de la raíz ($p < 0,05$). Esta pérdida de tejido aerenquimático podría ser una respuesta de la planta a la exposición al Pb, dado que la limitación en la pérdida de oxígeno radial contribuiría a la inmovilización del Pb en la rizósfera. Al presentar *L. peploides* la capacidad de internalizar elevados niveles de metales a nivel radicular sin evidenciar alteraciones morfológicas significativas, podría sugerirse la tolerancia de este fenotipo a las condiciones del ensayo.

Palabras Clave: Fitorremediación, plantas acuáticas, plomo, microscopía óptica, alteraciones morfológicas.

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de servicios de los ecosistemas y las constantes presiones ejercidas sobre ellos han llevado a su deterioro progresivo. Los cuerpos de agua, frecuentemente utilizados como sumidero de contaminantes, reciben una alta carga de metales tóxicos provenientes principalmente de la actividad industrial y de la escorrentía desde áreas urbanas o periurbanas (Nriagu & Pacina, 1988). En el Área Metropolitana de Buenos Aires, los ríos Matanza-Riachuelo y Reconquista muestran un elevado grado de contaminación por metales pesados (Arreghini *et al.*, 2007; de Cabo *et al.*, 2007; Iorio *et al.*, 2006; Magdaleno *et al.*, 2001; Salibián, 2006), ubicándolos entre los más contaminados del mundo (Black Smith Institute, 2007). Dentro de la gran variedad de contaminantes que reciben los cuerpos de agua, el plomo es uno de los que presenta mayor abundancia y distribución. Si bien la meteorización de rocas con elevado contenido de minerales de Pb puede constituir una fuente natural del metal (Kabata-Pendias, 2011; Xu *et al.*, 2014), en numerosas cuencas fluviales su origen se debe principalmente a la actividad humana, siendo la deposición atmosférica y la escorrentía desde áreas agrícolas o urbanas las vías de mayor incidencia (Merlo *et al.*, 2011; O'Geen *et al.*, 2010). En los fertilizantes fosforados el zinc, el plomo y el

cadmio suelen ser los metales presentes en mayor concentración (Franklin *et al.*, 2005; Martí *et al.*, 2002). En la Ciudad Autónoma de Buenos Aires el plomo es uno de los metales típicamente relacionados con la emisión de gases de los automotores, y podrían estar asociadas principalmente con el frenado y el desgaste de neumáticos (Fujiwara *et al.*, 2011).

En los cuerpos de agua superficiales la vegetación litoral cumple un rol fundamental en la dinámica de los contaminantes que ingresan por escorrentía. Numerosas plantas acuáticas tienen la capacidad de absorber y acumular metales pesados en su biomasa, o incluso de favorecer su retención en los sedimentos, principalmente a través de la generación de materia orgánica y de la modificación del pH y del potencial redox. En conjunto, estos factores disminuyen la movilidad ambiental de los metales, y por lo tanto contribuyen a controlar su biodisponibilidad (Kabata-Pendias, 2011).

Probablemente por tratarse de organismos sésiles, las plantas han desarrollado un amplio rango de mecanismos de resistencia que les permiten sobrevivir e incluso prosperar en ambientes altamente contaminados con metales pesados (Krzesłowska, 2011; Valea, 2011). La principal vía de captación de metales en plantas acuáticas arraigadas está representada por el sistema raíz/rizósfera, por lo que las estrategias de tolerancia basadas en la compartimentación

deberían tender a inmovilizar los metales en la biomasa subterránea previniendo de esta forma su transporte hacia las estructuras aéreas más sensibles.

Ludwigia peploides (Kunth) P.H. Raven e *Hydrocotyle ranunculooides* L.f. son dicotiledóneas acuáticas arraigadas al sedimento, con sus tallos y hojas extendidos sobre el agua (Lahitte y Hurrell, 1997). Son frecuentes en las márgenes de ríos y arroyos de la región, aunque más restringidas a ambientes con grado moderado a bajo de contaminación, en especial *L. peploides* (Basílico *et al.*, 2015; Cortelezzi *et al.*, 2013). La bibliografía acerca del comportamiento de estas plantas en ambientes contaminados por metales pesados es escasa (Gómez *et al.*, 2008; Romano *et al.*, 2016; Rosa *et al.*, 2014).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la tolerancia de dos plantas acuáticas nativas expuestas a dos concentraciones elevadas de Pb en sedimento, analizar la biodisponibilidad y partición del metal agregado, e identificar posibles alteraciones morfológicas en raíz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se realizó un ensayo de 18 semanas de duración (noviembre a abril) en invernáculo. Para ello, se recolectaron plantas de tamaño similar de *L. peploides* e *H. ranunculooides* desde sitios no contaminados de la Provincia de Buenos Aires (34°45'28" S, 58°59'39" O) (Arreghini *et al.*, 2007) y se dejaron aclimatar durante un mes en condiciones de invernáculo en piletas con agua de red y sedimento del lugar de recolección. Para el desarrollo del ensayo se utilizaron muestras de sedimentos provenientes del Bajo Delta del río Paraná y se colocaron en recipientes plásticos de 40 L de capacidad, proporcionando una adecuada zona de enraizamiento para la planta, y constituyendo cada uno de ellos una unidad experimental. Se llevaron a cabo dos tratamientos a los que se les agregó $Pb(NO_3)_2$ a fin de obtener una concentración de 300 μg Pb/g sedimento (T300) y 900 μg Pb/g sedimento (T900). Ambos tratamientos se contrastaron con sus respectivos controles (C300 y C900,

sin la adición de metal pero con el agregado de KNO_3 a fin de contrarrestar el efecto del agregado de nitrato con la sal de plomo). El sedimento se mezcló con la solución de la sal correspondiente, de modo de obtener una mezcla homogénea y dejándose estabilizar durante un mes en invernáculo previo a la exposición de las plantas. Al cabo de un mes, luego de la aclimatación de las plantas y de la estabilización del sedimento contaminado, se trasplantaron en los respectivos recipientes 126 g de peso fresco de *H. ranunculooides*, y dos tallos con sus respectivas hojas y raíces de la especie *L. peploides*. Los recipientes fueron dispuestos en el invernáculo de manera aleatoria, y en cada uno se mantuvo una capa de agua de 10 cm de profundidad (agua de inundación) mediante riego con agua corriente (el agua fue almacenada durante cuatro días previos a su aplicación). Todos los tratamientos se realizaron por triplicado. Cada quince días se midió el pH del agua y del sedimento, mediante pHmetro HANNA pH ep, y el potencial redox del sedimento, con un potenciómetro HANNA pH y ORP combo.

Al finalizar el ensayo las plantas fueron lavadas cuidadosamente con agua de red y destilada para remover cualquier partícula de sedimento que hubiera quedado adherida. Posteriormente, fueron separadas en diferentes partes (raíz, tallo y hoja) y secadas a 70°C hasta registrar peso constante (precisión de 0,0001 g) con balanza OHAUS Pioneer.

Para la determinación de Pb en cada estructura de la planta se molió el material seco y se digirió 0,5 g de cada parte mediante digestión ácida con HNO_3 y $HClO_4$ concentrados (7:1) según Rendina *et al.* (2006). Se calculó el factor de translocación (FT) de plomo a través de la relación de la concentración de metal en hoja respecto a su concentración en raíz. Se determinó la concentración total de Pb en el agua de inundación en muestras digeridas con HNO_3 y $HClO_4$ según APHA (1992).

Los sedimentos, una vez retiradas las plantas, fueron secados al aire. Se molieron y se pasaron por un tamiz de 2 mm de malla. Se determinó el contenido de materia orgánica por Walkley y Black, nitrógeno Kjeldahl, fósforo total por digestión ácida, potasio por fotometría de llama y la capacidad de intercambio catiónico

según Page *et al.* (1982), las concentraciones de plomo unido a las distintas fracciones del sedimento: intercambiable, carbonatos, óxidos de Fe y Mn, materia orgánica-sulfuros, y residual según la técnica de extracción secuencial de Tessier *et al.* (1979). Las muestras de sedimentos se analizaron por triplicado. Los valores promedio de los coeficientes de variación obtenidos (menor al 8%), pueden considerarse adecuados para el análisis del medio ambiente. El material de referencia CRM 320 (sedimentos del río) se utilizó para verificar la exactitud de la determinación del metal en el análisis de extracción secuencial. El porcentaje de recuperación del metal del material de referencia fue de 89%. La concentración de Pb en todos los extractos se midió por espectrometría de absorción atómica con llama aire/acetileno Perkin Elmer modelo AAnalyst 200 (Perkin Elmer, Inc., Waltham, MA, USA), usando estándares externos, preparados a partir de una solución stock del metal (1000 µg/g, Merck). Las medidas de seguridad ambiental y control de calidad para suelos y plantas incluyeron análisis de réplicas, agregado de metal y blancos. Los límites de detección (LD: µg/g) fueron 0,08 en la primera fracción, 0,15 en la segunda, 0,40 en la tercera, 0,40 en la cuarta y 0,10 en la quinta fracción. Los valores de los límites de concentración (LC: µg/g) fueron: 0,15; 0,22; 0,47; 0,47 y 0,24 respectivamente para cada una de las fracciones enumeradas anteriormente. La exactitud del procedimiento analítico para la determinación total de Pb en plantas fue chequeada usando BCR/CRM 060 (material de referencia para plantas acuáticas). El análisis de réplicas de este material de referencia mostró buena exactitud, con tasas de recuperación de Pb entre 81% - 101%. Los límites de detección (LD) y los límites de concentración (LC) calculados para las muestras vegetales fueron de 0,9 y 0,94 µg/g, respectivamente.

Se calculó la tasa de acumulación (BCF, bioconcentration factor) como la relación entre la concentración de metal en raíz respecto de la concentración total del metal en el sedimento. Para evaluar las alteraciones morfológicas producidas por el stress por Pb, al finalizar el ensayo se tomaron muestras de raíz de cada tratamiento, se lavaron con agua destilada y se fijaron en solución FAA (formol, ácido acético,

alcohol; conteniendo 50% de alcohol etílico, 35% de agua destilada, 10% de formol y 5% de ácido acético glacial). Se realizaron cortes a mano alzada y se colocaron en vidrio reloj, sumergidos en una solución de violeta de cresilo al 5% durante cinco minutos. Las piezas se lavaron con agua destilada y se montaron en gelatina-glicerina (50 g de gelatina, 170 ml de agua destilada, 150 ml de glicerina y 7 g de cristales de fenol) para su observación a microscopio óptico triocular Olympus CX31 y obtención de fotografías (cámara fotográfica AmScope MT500), para luego medir variables anatómicas: diámetro de la raíz, ancho del parénquima cortical, ancho de la rizodermis, ancho de la endodermis, ancho del cilindro central, y altura (AIC) y ancho (AnC) de las células de la corteza interna mediante software AmScope MT. Se midió la porosidad de las raíces a través del cálculo del porcentaje de aerénquima en la superficie total de la raíz en un corte transversal (sólo en *H. ranunculoides*, dada la dificultad de obtener cortes intactos en la otra especie). Para el análisis de isotropía en las células de la corteza interna se calculó la relación entre la altura y el ancho de las células (en corte transversal) de acuerdo con la siguiente expresión:

$$I = \frac{\sum_{1}^{N} (AIC - AnC)^2}{N}$$

donde N representa el número de células medidas. De esta forma, los valores más bajos de I corresponderían a las células más isodiamétricas. Para todas las mediciones se tomaron 3 raíces de cada tratamiento, y se realizaron entre 2 y 5 cortes en cada una. En cada corte se realizaron 5 mediciones de cada parámetro (10 mediciones para AIC, AnC y porosidad).

Análisis estadístico

Se analizó la distribución normal usando el test de Lilliefors en las siguientes variables: pH del agua y del sedimento, concentraciones de plomo en agua, en tejido vegetal, en las diferentes fracciones de sedimento y concentración total en sedimento y biomasa

aérea alcanzada al final de la experiencia. Los datos que no siguieron una distribución normal fueron transformados logarítmicamente (\log_{10}) y sus distribuciones re-examinadas. Todas las variables fueron testeadas para homogeneidad de varianzas usando el test de Levene y examinadas por ANOVA de un factor. Se realizaron comparaciones con el test de Tukey cuando se hallaron diferencias significativas entre tratamientos. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando StatSoft Inc. (2004). Se consideraron diferencias significativas a $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Biodisponibilidad y movilidad potencial del Pb en el sistema agua-sedimento.

El sedimento utilizado para el ensayo presentó valores de pH cercanos a la neutralidad, un alto contenido de materia orgánica y buenas condiciones nutricionales (Tabla 1), similares a las encontradas en sedimentos litorales en los cuales estas especies se desarrollan naturalmente (Valea, 2011). Si bien los niveles de plomo resultaron levemente superiores al nivel guía ISQG (Interine Sediment Quality Guideline), 35 mg/kg, para sedimentos de agua dulce de Canadá (CCME, 2002), se encontraron por debajo de los reportados en ambientes no contaminados de la Provincia de Buenos Aires (Arreghini *et al.*, 2007). Estos resultados señalan la aptitud del sustrato elegido para el crecimiento de las especies de plantas de humedales estudiadas.

Los valores de pH del sedimento y del agua siguieron un comportamiento similar entre todos los tratamientos durante el transcurso de la experiencia. Con excepción del día 0 en el

cual se registró un pH de $8,3 \pm 0,3$ en el agua, los valores de pH del agua y del sedimento fueron siempre cercanos a la neutralidad.

El potencial redox, medido al inicio y al final del ensayo, mostró condiciones reductoras a altamente reductoras, oscilando entre valores de -80 mV y -350 mV.

El agregado de plomo en los tratamientos T300 y T900 mostró una distribución diferencial en el sistema agua de inundación-sedimento-planta. Mediante un balance de masa se calculó el porcentaje de metal en los distintos compartimentos evidenciándose que el metal quedó retenido en un 99% en el sedimento, y menos del 0,01% se encontró en el agua de inundación. La proporción de plomo contenida en las plantas varió entre las especies y los tratamientos, siguiendo el orden decreciente *L. peploides* (0,28% y 0,48% en T300 y T900, respectivamente) y *H. ranunculoides* (0,09% y 0,06%, en T300 y T900, respectivamente). Este balance indica que en el sistema agua de inundación-sedimento-planta el sedimento resultó el sumidero principal de Pb, probablemente debido a la alta variedad y disponibilidad de sitios de unión ofrecidos por la materia orgánica y la fracción mineral, así como por la elevada estabilidad termodinámica de los compuestos formados (Bargiela, 2016). El desplazamiento de plomo desde el agua de inundación hacia el sedimento podría explicarse además por la tendencia de este metal a formar sales muy insolubles con diferentes aniones tales como fosfato, sulfuro, carbonato, etc. (Kabata-Pendias, 2011). Si bien las plantas retuvieron sólo una pequeña fracción del total de plomo del sistema, este porcentaje varió entre ambas especies, por lo que podría sugerirse que la magnitud de metal acumulado dependería de la cantidad y estabilidad de los sitios de unión disponibles en cada especie.

El agregado de Pb al sistema produjo un incremento significativo en la concentración total en el sedimento respecto a los controles ($p < 0,01$), así como también en todas las fracciones ($p < 0,01$); siendo a su vez las concentraciones de Pb encontradas en T900 significativamente mayores a las de T300 ($p < 0,01$) (Figura 1). En los tratamientos con agregado de Pb, el metal se asoció principalmente a las fracciones materia orgánica-sulfuros (42%) y óxidos de hierro y manganeso (40%), y en menor

Tabla 1. Valores promedio y desvío estándar de características físicas y químicas iniciales del sedimento. CIC: Capacidad de intercambio catiónico.

pH	7,40 ± 0,10
Materia orgánica (%)	37 ± 3,00
Nitrógeno Kjeldahl	2,56 ± 0,31
Fósforo Total (µg/g)	211 ± 10
CIC (meq/100g)	76 ± 11
Potasio (meq/100g)	26 ± 11
Plomo (µg/g)	55,8 ± 2,70

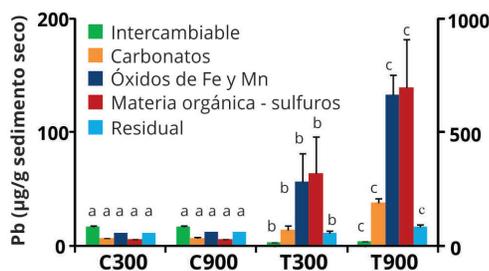


Figura 1. Concentración de Pb en las diferentes fracciones del sedimento en los controles (C) y tratamientos (T). Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos.

medida a las fracciones carbonatos (9 - 12%), residual (5 - 8%) e intercambiable (1 - 3%). La asociación de un metal a una fracción del sedimento no solamente está determinada por su afinidad química, sino también por la disponibilidad real de sitios de unión y por la cinética de las reacciones involucradas. Dado el elevado contenido de materia orgánica de los sedimentos (Tabla 1) y la alta afinidad del metal por esta fracción era esperable que la concentración de Pb asociada fuera también de importancia, ya que la materia orgánica altamente humificada presenta un alto potencial para formar complejos organometálicos (Sposito, 1989). La fase materia orgánica-sulfuro es relativamente estable en los sedimentos de condiciones reductoras característicos de los humedales y representa una importante reserva de "sitios de unión" para los metales pesados, por lo que es considerada una fase de baja movilidad (Abuchacra *et al.*, 2015). Sin embargo, cambios en las condiciones redox que pueden tener lugar durante procedimientos de remediación *ex situ* de sedimentos pueden implicar la oxidación de esta fracción y la liberación de metales al medio. Por otra parte, varios autores resaltan que los óxidos de Fe y Mn constituyen la principal fase de retención de Pb en sedimentos y suelos agrícolas (Al-Degs *et al.*, 2006; Rendina & Iorio, 2012). Los óxidos de Fe y Mn están presentes en los sedimentos formando nódulos, concreciones, cemento entre partículas, o se encuentran simplemente sorbidos a las partículas del sedimento, además de poder encontrarse en la fracción coloidal del agua intersticial. Por su capacidad para formar co-precipitados, son considerados

excelentes secuestradores de metales y una fase de baja movilidad (McBride, 1989) y se ha propuesto su utilización en la remoción de contaminantes del agua (Warren & Haack, 2001), aunque bajo condiciones reductoras o ácidas la removilización de los metales pesados puede representar un riesgo ambiental. Entre las fracciones del sedimento operacionalmente definidas mediante la técnica secuencial de Tessier *et al.* (1979), la fracción intercambiable representa la forma más móvil y biodisponible presente en suelos y sedimentos, seguida de la fracción carbonato. En esta experiencia estas fracciones retuvieron sólo un porcentaje minoritario de Pb. La fracción residual por su parte, representa la proporción de metales integrados en la red cristalina de minerales primarios y secundarios. Su importancia se asocia con la mineralogía de los materiales que constituyen el suelo y/o sedimento. Se postula que una elevada proporción de metales en esta fracción, en relación con la concentración total, implica un bajo nivel de contaminación (Banat *et al.*, 2005) y un mínimo riesgo ambiental, debido principalmente a su escasa movilidad.

Absorción y distribución del Pb en las diferentes estructuras de las plantas.

En los tratamientos sin agregado de metal, el patrón de distribución de Pb varió entre las especies, siguiendo el orden raíz>hoja>tallo en *L. peploides* y no observándose una tendencia clara en *H. ranunculoides* (Figura 2). El agregado de metal produjo un incremento significativo de la concentración de plomo en todas las estructuras, siendo la concentración promedio en raíz muy superior (alrededor de 5 veces en *H. ranunculoides* y más de 20 veces en *L. peploides*) a la encontrada en las estructuras aéreas. Las concentraciones de plomo en tallo y hoja de *H. ranunculoides* aumentaron significativamente en los tratamientos T300 ($p < 0,05$ y $p < 0,01$, respectivamente) y T900 ($p < 0,01$ en ambas estructuras) respecto a los controles. En *L. peploides* sólo se observó un aumento en las concentraciones de plomo en el tallo y en la hoja en el tratamiento T900 ($p < 0,01$), lo cual sugiere que los mecanismos de retención

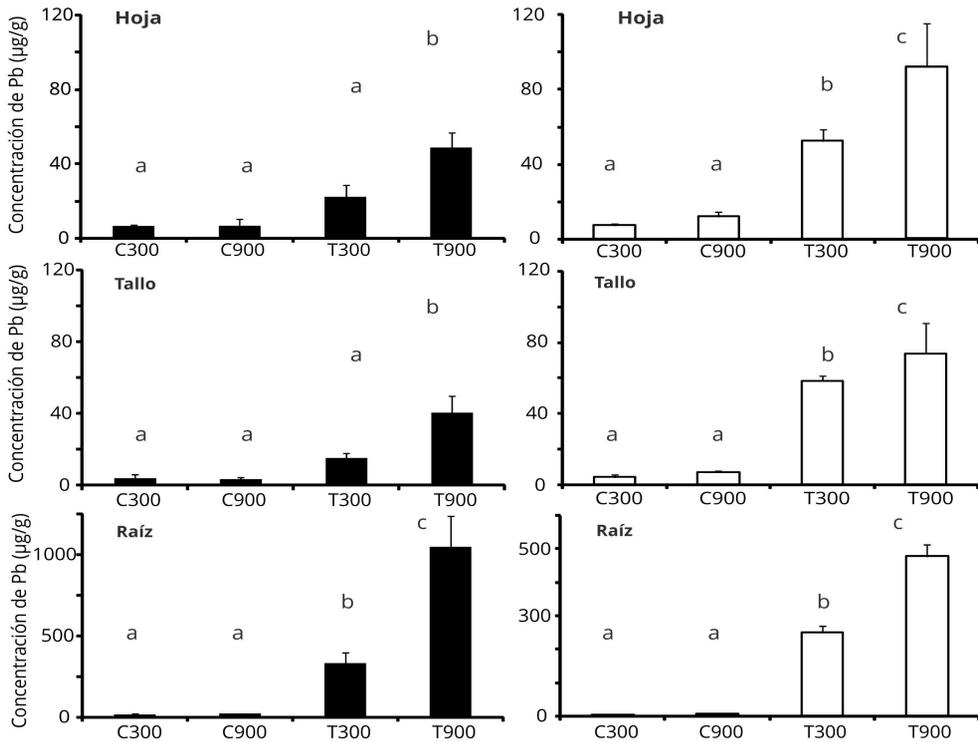


Figura 2. Concentración de Pb *Ludwigia peploides* (negro) e *Hydrocotyle ranunculoides* (blanco) para los controles (C) y tratamientos (T). Letras diferentes denotan diferencias significativas entre tratamientos.

en estructuras subterráneas actuarían con eficiencia a bajos niveles de contaminación por metal. En ambas especies las concentraciones de plomo en las hojas fueron levemente superiores a la de los tallos, a diferencia de lo observado en otras plantas de hábito palustre como *Sagittaria montevidensis* Cham. & Schlecht y *Schoenoplectus californicus* (C. A. Meyer) Soják (Serafini *et al.*, 2007; Auguet *et al.*, 2014). Debe tenerse en cuenta que en las plantas con hábito tendido sobre el agua, sus tallos y hojas están en mayor o menor medida en contacto con las aguas contaminadas, y esto indicaría que la captación de metal también podría llevarse a cabo por estas estructuras, aun siendo las concentraciones de Pb en agua comparativamente bajas en relación con los sedimentos (C300: 30 ± 12 µg/L; C900: 44 ± 3 µg/L; T300: 75 ± 17 µg/L; T900: 75 ± 3 µg/L). Dado que el FT se calcula como la relación entre la concentración de metal en biomasa aérea en relación con la subterránea, valores del índice semejantes o superiores a la unidad indican normalmente una alta translocación interna

del metal, mientras que valores inferiores sugieren una inmovilización selectiva en raíz. En la experiencia se observó una disminución del FT al aumentar la concentración de Pb en cada tratamiento, pero en *H. ranunculoides* los valores fueron siempre superiores a *L. peploides*, mientras que en ambos casos los FT fueron comparativamente elevados en relación a los obtenidos en otras plantas de humedales (Tabla 2) (de Cabo *et al.*, 2015). En las plantas estudiadas, altas concentraciones relativas de metal en hoja podrían explicarse además por su hábito de vida tendido, lo cual favorecería la captación foliar enmascarando parcialmente la traslocación interna del metal.

Tabla 2. Tasa de acumulación (BCF) y Factor de translocación (FT) de Pb en las especies analizadas y para cada tratamiento.

	<i>Ludwigia peploides</i>		<i>Hydrocotyle ranunculoides</i>	
	BCF	FT	BCF	FT
C300	0,30	0,42	0,08	1,74
C900	0,24	0,42	0,36	1,10
T300	0,49	0,07	0,14	0,22
T900	0,65	0,05	0,29	0,19

La tasa de acumulación (BCF) indica la capacidad de la planta para captar los metales disponibles en el sustrato. En todos los tratamientos y para ambas especies la tasa de acumulación mostró valores muy inferiores a la unidad (Tabla 2), indicando que de todo el metal presente en el sedimento sólo una pequeña fracción fue captada por las raíces. Aun así, *L. peploides* mostró mayor tasa de acumulación que *H. ranunculoides*.

La concentración de Pb en raíces fue mayor en los tratamientos con agregado de metal, debido al incremento de su concentración efectiva en el sedimento (el metal fue incorporado en elevadas concentraciones y en forma de una sal muy soluble) y posiblemente a la falta de mecanismos específicos de exclusión. McLaren & Clucas (2001) y Kandpal *et al.* (2004) proponen que el enriquecimiento artificial de los sedimentos con metales, como el que se realizó en este ensayo, incide principalmente en las fracciones más móviles en comparación con los sedimentos que poseen niveles previos de contaminación. De todos modos, existen otros factores involucrados en la sorción del metal en los sedimentos, tales como pH, potencial redox, contenido de materia orgánica y nutrientes, los cuales pueden modificar la biodisponibilidad de los metales (Kabata-Pendias, 2004). Rearte *et al.* (2013) encontraron que la máxima adsorción de Pb sobre un biosorbente se produce a valores de pH alcalinos debido principalmente a dos procesos que ocurren en forma simultánea: biosorción y precipitación de los cationes metálicos, predominando este último proceso a pH cercanos a la neutralidad. Por otra parte, la materia orgánica ofrece múltiples sitios de unión, de diversa calidad y cantidad, que puede modificar la biodisponibilidad del metal (Rendina & Iorio, 2012). Las condiciones reductoras y los valores de pH cercanos a la neutralidad, así como el elevado contenido de materia orgánica contribuyen a la sorción y precipitación de sales insolubles de plomo, que podrían limitar su biodisponibilidad.

Efectos del plomo sobre la producción de biomasa y sobre la morfología celular.

Se han utilizado diversos indicadores de toxicidad por metales en plantas como por ejemplo clorosis, disminución en la producción

de biomasa seca o fresca, respuestas metabólicas como producción de fitoquelatinas, eficiencia fotosintética, alteraciones ultraestructurales (Gherardi *et al.*, 1999). El crecimiento en biomasa es una variable útil para establecer la toxicidad de metales pesados ya que es la respuesta más frecuente observada en plantas (Reichman, 2002), en comparación con otros indicadores como el nivel de proteínas de stress o la eficiencia fotosintética (Lewis *et al.*, 2001). Dado que los metales presentan además diferentes modalidades de acción, la respuesta global observada puede variar con el contaminante estudiado. En el ensayo realizado no se han observado diferencias significativas en la producción de biomasa aérea de las distintas especies entre los tratamientos (Figura 3), a diferencia de lo reportado por Arreghini *et al.* (2001; 2006) para plantas de *Schoenoplectus* sp. que disminuyeron significativamente la producción de biomasa aérea al ser sometidas a elevadas concentraciones de Zn. La escasa movilidad del Pb en sedimento, debida a su preferencia por fracciones de baja biodisponibilidad (Figura 1), sumada a su limitada translocación dentro de la planta (Tabla 2), podría contribuir a proteger a las estructuras fotosintéticas. La dificultad para

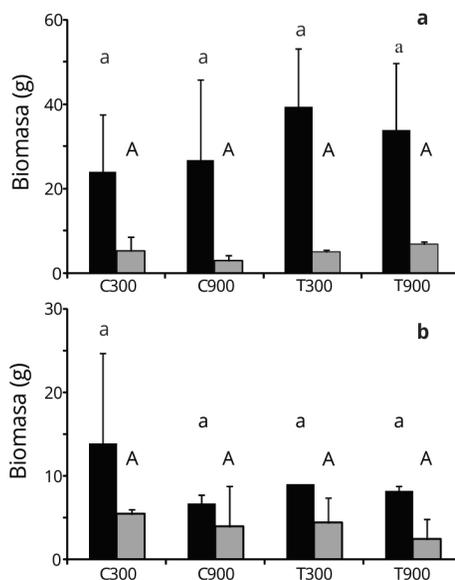


Figura 3. Biomasa aérea (negro: biomasa de tallo y gris: biomasa de hojas) producida por *Ludwigia peploides* (a) e *Hydrocotyle ranunculoides* (b) para cada tratamiento y control durante el ensayo (letras diferentes denotan diferencias significativas).

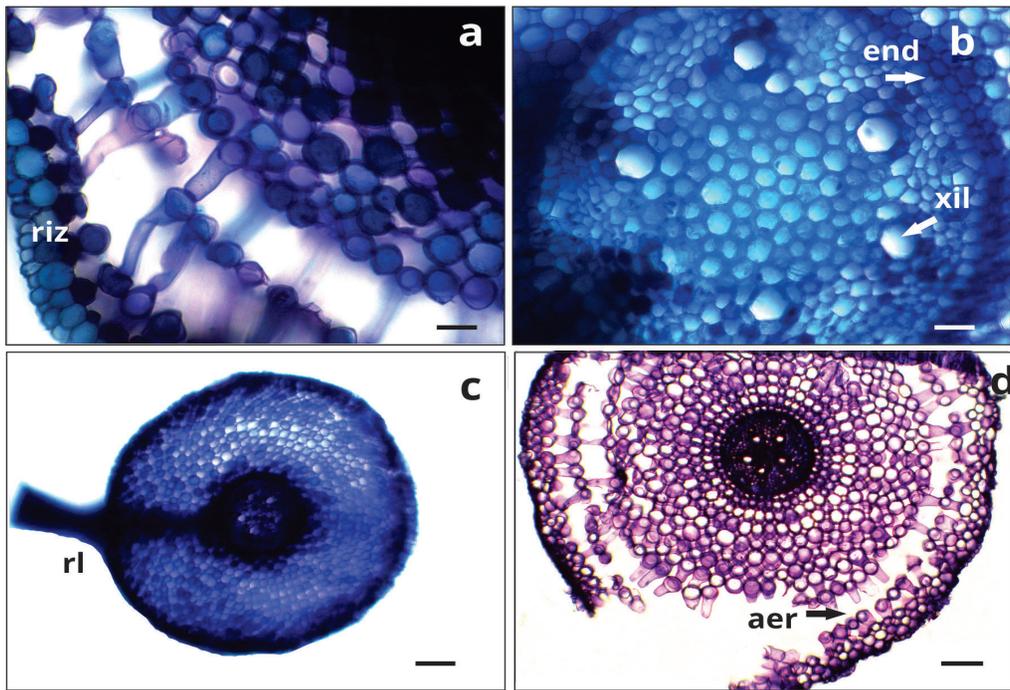


Figura 4. Corte transversal de raíces de *Ludwigia peploides* teñidos con violeta de cresilo del control C900 (a, b y c) y del tratamiento T900 (d). Aerenquima: aer, endodermis: end, rizodermis: riz, raíz lateral: rl, xilema: xil. Escala = 100µm.

propagar a las plantas bajo estudio a partir de semillas impidió evaluar el efecto del metal sobre el crecimiento radicular. La raíz de *L. peploides* está protegida por la rizodermis unistrata. La corteza está formada por un parénquima de células isodiamétricas con espacios o cámaras aerenquimáticas (Figura 4a). La capa más interna de la corteza es la endodermis con banda de Caspary inconspicua. El cilindro central está formado por el periciclo que rodea los cordones de xilema primario que se extienden hasta el centro de la raíz y alternan con los cordones de floema (Figura 4b). En T900 *L. peploides* presentó los valores más altos de Pb en raíz. También se observaron elevados valores de Pb

en estructuras fotosintéticas, probablemente como consecuencia del íntimo contacto de los tallos y hojas de esta especie con el agua del tratamiento con altos niveles de metal. A pesar de esto, los parámetros morfométricos medidos fueron semejantes en T900 con respecto a los tratamientos control (Tabla 3 y Figuras 4c y d). Dado que *L. peploides* presenta la capacidad de internalizar elevados niveles de metales a nivel radicular, traslocando o acumulando también en estructuras fotosintéticas sensibles y sin evidenciar alteraciones morfológicas significativas, podría sugerirse la tolerancia de este fenotipo a las condiciones del ensayo y proponerse futuras evaluaciones para evaluar

Tabla 3. Valores promedios y desvíos estándar de los rasgos morfológicos de plantas de *Ludwigia peploides* crecidas en los tratamientos C900 y T900. (n=3)^a.

	C900	T900
Diámetro de la raíz (µm)	780 ±145	816 ±401
Ancho de la rizodermis (µm)	46 ±7	36 ±8
Ancho de la endodermis (µm)	40 ±13	41 ±7
Altura de las células del parénquima cortical (µm)	92 ±19	98 ±18
Ancho de las células del parénquima cortical (µm)	92 ±18	96 ±29
Análisis de isotropía (I)	106 ±100	113 ±45

^a: El valor de cada réplica corresponde al promedio de entre 20 y 50 mediciones en las variables altura y ancho de la célula del parénquima cortical, y entre 10 y 25 mediciones en las restantes variables.

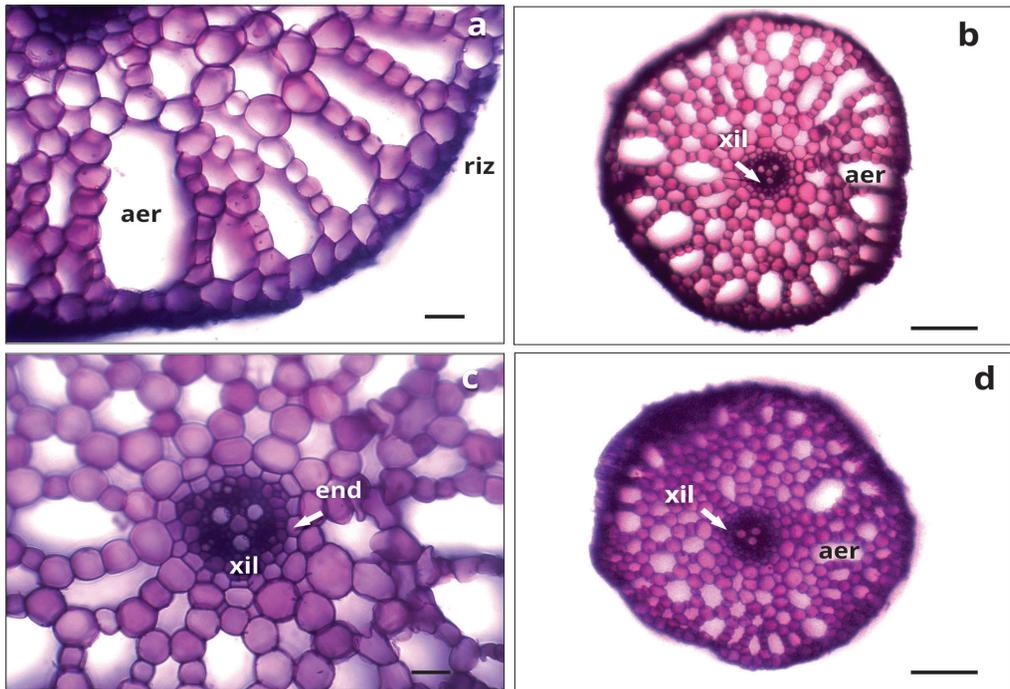


Figura 5. Corte transversal de raíces de *Hydrocotyle ranunculoides* teñidos con violeta de cresilo del control C900 (a, b y c) y del tratamiento T900 (d). Aerenquima: aer, endodermis: end, rizodermis: riz, xilema: xil. Escala =100µm.

su potencial de acción como remediadora tanto de sedimentos como de aguas contaminadas por metales. La raíz de *H. ranunculoides* está protegida por la rizodermis unistrata, formada por células poligonales con paredes delgadas (Figura 5a). En la corteza externa hay una capa parenquimática de células isodiamétricas. La corteza media está formada por parénquima con grandes cámaras aerenquimáticas del tipo

Tabla 4. Valores promedios y desvíos estándar de los rasgos morfológicos de plantas de *Hydrocotyle ranunculoides* crecidas en los tratamientos C900 y T900. (n=3)^a. p.c.: parénquima cortical.

	C900	T900
Diámetro de la raíz (µm)	540 ±29**	396 ±37
Ancho del p. c. (µm)	201 ±50	151 ±29
Ancho de la rizodermis(µm)	11 ±1*	8 ±1
Ancho de la endodermis (µm)	13 ±3	10 ±1
Ancho del cilindro central (µm)	75 ±5	65 ±6
Altura células p.c. (µm)	24 ±2**	19 ±1
Ancho células p.c. (µm)	25 ±1**	21 ±0
Análisis de isotropía	11,3 ±1,3**	18,4 ±0,9
Porosidad de la raíz (%)	35,8 ±3,1*	22,2 ±3,0

^a: El valor de cada réplica corresponde al promedio de entre 20 y 50 mediciones en las variables altura y ancho de la célula de la corteza interna, y entre 10 y 25 mediciones en las restantes variables.

*= diferencias significativas (p<0,05); **= diferencias significativas (p<0,01)

“panal de abejas” (Figura 5b) separadas por filas uniseriadas de células. La corteza interna está formada por un estrato de células redondeadas, muy regulares en su forma. La capa más interna de la corteza es la endodermis con banda de Caspary inconspicua. El cilindro central presenta el periciclo unistrato que rodea los tejidos de conducción, xilema y floema primarios (Figura 5c). En T900 se observó una disminución en el diámetro total de la raíz (p<0,01) y de la rizodermis de *H. ranunculoides* (p<0,05) (Tabla 4). Esta alteración en el diámetro de la raíz también fue reportada por Mufarrege *et al.* (2014) para *Typha domingensis* Pers. expuesta a elevadas concentraciones de metales. Las células de la corteza interna presentaron en todos los casos bajos valores del índice de isotropía, indicando que son células claramente isodiamétricas. En los sedimentos contaminados con Pb las células de la corteza interna presentaron menor altura (p<0,01) y ancho (p<0,01), se observó una disminución significativa en la porosidad de la raíz (p<0,05), lo cual indica una pérdida de tejido aerenquimático (Tabla 4 y Figura 5b y d). Esta pérdida de tejido aerenquimático podría ser una respuesta de la planta a la exposición al Pb, dado que la limitación en la pérdida de

oxígeno radial contribuiría a la inmovilización del Pb en la rizósfera y a la minimización de su potencial acción tóxica, aunque comprometería el crecimiento radicular y afectaría la capacidad de asentamiento de esta planta.

Las plantas acuáticas arraigadas suelen crecer sobre sedimentos completa o parcialmente inundados, con niveles variables de anaerobiosis y en condiciones de moderadas a fuertemente reductoras que pueden limitar la disponibilidad de nutrientes esenciales. El éxito de estas plantas para establecerse en estos sistemas se debe en gran medida a las adaptaciones anatómicas y fisiológicas que permiten garantizar un adecuado suministro de O₂ a las estructuras subterráneas. El tejido aerenquimático posee una baja resistencia interna por lo que su adecuado desarrollo asegura el intercambio de gases desde el sedimento hacia la atmósfera (CO₂, CH₄, H₂S, etc.) o desde la atmósfera hacia el sedimento (principalmente O₂). Si bien una proporción del O₂ es utilizado en el metabolismo aeróbico de las raíces, el remanente puede difundir hacia la rizósfera a través de un proceso definido como Pérdida de Oxígeno Radial (ROL, por sus siglas en inglés) (Cheng *et al.*, 2010), comprometiéndose el crecimiento de los meristemas apicales pero favoreciendo la generación de condiciones oxidantes en el ambiente rizosférico que incrementan la disponibilidad de ciertos nutrientes. Por este motivo las plantas acuáticas suelen presentar, además de un extenso aerenquima, barreras específicas para minimizar la ROL, características que actúan sinérgicamente para amplificar la difusión del O₂ hasta el extremo de la raíz (Colmer, 2003).

Ciertas fitotoxinas pueden producir cambios en la estructura anatómica o morfológica de la raíz de plantas acuáticas que originan variaciones en la ROL (Armstrong *et al.*, 2009; Taggart *et al.*, 2009). Estos cambios pueden involucrar engrosamientos de las paredes celulares y mayor empaquetamiento de la rizodermis y exodermis, aumentos en los depósitos de suberina e incrementos en los contenidos de lignina (Cheng *et al.*, 2010; Deng *et al.*, 2009). Si bien no son frecuentes los estudios que relacionen los efectos de los metales sobre el desarrollo de las estructuras que promueven el intercambio de gases, resulta de interés notar que las condiciones

anóxicas de los sedimentos suelen favorecer la inmovilización de metales tóxicos no esenciales como el Pb. En estas condiciones el metal suele quedar selectivamente retenido por la materia orgánica refractaria a la degradación y por los sulfuros con los que forma sales muy poco solubles, como paso previo a la sustitución isomórfica y a la integración en la estructura cristalina de los minerales preexistentes. Si bien el menor desarrollo del aerenquima permitiría considerarlo como una estrategia orientada a la inmovilización del Pb y a la minimización de su potencial acción tóxica, podría secundariamente comprometer el crecimiento radicular afectando la capacidad de asentamiento y exploración del sustrato de *H. ranunculoides*.

Relevancia ambiental e implicancias sociales

El tramo inferior de la cuenca Matanza-Riachuelo ha estado expuesto históricamente a una intensa contaminación, debido principalmente al desarrollo de una industria incipiente con escasos controles sobre sus emisiones gaseosas y vertidos líquidos. En este contexto se ha visto favorecida la instalación de asentamientos precarios, que progresivamente han crecido en cantidad de ocupantes y han ganado en parámetros de urbanización (construcción de escuelas, instalación de salas de primeros auxilios, plazas recreativas, etc.), pero sin experimentar mejoras evidentes en cuanto a la provisión de servicios esenciales (agua potable, cloacas, cobertura de salud, etc.). Es principalmente el grupo social que vive cerca del Riachuelo el que se encuentra expuesto primariamente a la contaminación, por lo que además del estricto control médico de la población, las propuestas de saneamiento de la cuenca orientadas a la mitigación de la acción tóxica de los contaminantes existentes deberían tener un rol central en la elaboración políticas públicas.

La investigación orientada hacia el estudio de los efectos del Pb sobre diferentes especies de plantas de humedales características de la cuenca, permitió identificar una especie que manifiesta tolerancia a la contaminación por este metal y que presentan además la capacidad de acumularlo tanto en la biomasa subterránea como en la parte aérea. Estas conclusiones se

encuentran corroboradas por observaciones a campo en las que se ha detectado la presencia de estas plantas en las zonas degradadas. En el caso de *L. peploides* el hábito tendido posibilitaría además la remoción de metal de la fase líquida por el contacto íntimo entre tallos y hojas y el agua contaminada.

CONCLUSIONES

El agregado de Pb mostró una distribución diferencial en el sistema agua de inundación-sedimento-planta, siendo el sedimento el principal sumidero. En los sedimentos contaminados el plomo estuvo asociado principalmente a las fracciones materia orgánica-sulfuros, y óxidos de Fe y Mn. Para ambas especies la raíz fue el principal órgano de acumulación, y el factor de translocación fue muy inferior a la unidad en los tratamientos con agregado de Pb. *L. peploides* presentó los valores más altos de Pb en raíz. En todos los tratamientos y para todas las especies estudiadas la tasa de acumulación (BCF) mostró valores muy inferiores a la unidad, indicando que de todo el metal presente en el sedimento sólo una pequeña fracción fue captada por las plantas. El agregado de Pb no afectó la producción de biomasa aérea en ninguna de las especies, lo cual puede relacionarse con la baja movilidad del Pb dentro de la planta. La exposición al Pb produjo alteraciones morfológicas en raíces de *H. ranunculoides* como ser una disminución en el diámetro de la raíz y de la rizodermis, y en la altura y el ancho de las células de la corteza interna, y una menor porosidad. La exposición de estas plantas de humedales a elevadas concentraciones de Pb no indujo cambios en la producción de biomasa aérea, sino que los efectos parecieron restringirse a las características anatómicas de las raíces solamente en el caso de *H. ranunculoides*. La identificación de plantas acuáticas nativas tolerantes a la contaminación por metales constituye la primera etapa en la elaboración de propuestas de remediación de cuencas contaminadas de bajo costo y alta sustentabilidad ambiental.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Buenos Aires por el proyecto UBACyT Programación Científica 2013-2016 GEF 0259, y a la Agencia de Promoción Científica y Tecnológica por el proyecto SECyT PICT 2012-2837.

REFERENCIAS

- Al-Degs, Y. S., El-Barghouthi, M. I., Issa, A. A., Khraisheh, M. A. & Walker, G. M. (2006).** Sorption of Zn(II), Pb(II), and Co(II) using natural sorbents: Equilibrium and kinetic studies. *Water Research*, 40: 2645-2658.
- Abuchacra, P. F. F., Aguiar, V. M. C., Abuchacra, R. C., Baptista Neto, J. A. & Oliveira, A. S. (2015).** Assessment of bioavailability and potential toxicity of Cu, Zn and Pb, a case study in Jurujuba Sound, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 100: 414-425.
- APHA-AWWA-WPCF. (1992).** *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*. Madrid: Ed. Díaz de Santos. S. A.
- Armstrong, J., Keep, R. & Armstrong, W. (2009).** Effect of oil on internal gas transport, radial oxygen loss, gas films and bud growth in *Phragmites australis*. *Annals of Botany*, 103: 333-340.
- Arreghini, S., de Cabo, L., Fabrizio de Iorio, A., Rendina, A. & Bonetto, C. (2001).** Effects of zinc on the growth of bulrush (*Schoenoplectus californicus*) and its distribution between different sediment fractions. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67: 264-270.
- Arreghini, S., de Cabo, L. & de Iorio, A.F. (2006).** Phytoremediation of two types of sediment contaminated with Zn by *Schoenoplectus americanus*. *International Journal of Phytoremediation*, 8: 223-232.
- Arreghini, S., de Cabo, L., Seoane, R., Tomazin, N., Serafini, R. & Fabrizio de Iorio, A. (2007).** A methodological approach to water quality assessment in an ungauged basin, Buenos Aires, Argentina. *Geojournal*, 70: 281-288.
- Auguet, S., De los Santos, C., Arakaki, N., Arnedillo, G., Peres, S., Arreghini, S., Serafini, R. & de Iorio, A. F. (2014).** Comparación de la distribución de Pb en cuatro especies de plantas acuáticas nativas. V Congreso Argentino Sociedad de Toxicología y Química Ambiental. Neuquén, Argentina. Recuperado en: http://setacargentina.setac.org/wp-content/uploads/2015/09/libro_de_resumenes-2014.pdf

(diciembre - 2016).

- Banat, K. M., Howari, F.M & Al-Hamad, A. A. (2005).** Heavy metals in urban soils of central Jordan: Should we worry about their environmental risks? *Environmental Research*, 97: 258-273.
- Bargiela, M. (2016).** Caracterización de la materia orgánica y su relación con los metales pesados en sedimentos del cauce del Río Matanza (Provincia de Buenos Aires República Argentina). Memoria para optar al grado de Doctora de la Universidad de Vigo. España. Universidad de Vigo. Área de Edafología y Química. Departamento de Biología vegetal y Ciencia del Suelo. Repositorio de la Universidad de Vigo. 250 páginas.
- Basílico, G.O., de Cabo, L. & Faggi, A. (2015).** Adaptación de índices de calidad de agua y de riberas para la evaluación ambiental en dos arroyos de la llanura pampeana. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales*, n.s. 17(2): 119-134.
- Blacksmith Institute. (2007).** The world's worst polluted places. The top ten (of the dirty thirty). Final Report. Recuperado en: <http://www.blacksmithinstitute.org/new-report-cites-the-world-s-worst-polluted-places.html> (diciembre - 2016)
- CCME (Canadian Council of Ministers of the Environment). 2002.** Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. En: Canadian Environmental Quality Guidelines. <http://www.ccme.ca/>
- Cheng, H., Liu, Y., Tam, N. F. Y., Wang, X., Li, S. Y., Chen, G. Z. & Ye, Z. H. (2010).** The role of radial oxygen loss and root anatomy on zinc uptake and tolerance in mangrove seedlings. *Environmental Pollution*, 158: 1189-1196.
- Colmer, T. D. (2003).** Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany*, 91: 301-309.
- Cortelezzi, A., Sierra, M. V., Gómez, N., Marinelli, C. & Rodrigues Capítulo, A. (2013).** Macrophytes, epipellic biofilm, and invertebrates as biotic indicators of physical habitat degradation of lowland streams (Argentina). *Environmental Monitoring and Assessment*, 185: 5801-5815.
- de Cabo, L., Rendina, A., Arreghini, S., García, A., Bargiela, M., Barros, M. J., Fortunato, M. S., Gemini, V., Rossi, S., Moretton, J., Korol, S., Serafini, R. J. M. & de Iorio, A. F. (2007).** Behaviour of the Riachuelo contaminants and their effects in the La Plata River estuary (Argentina). En: Scarpati, O. y J.A.A. Jones (Ed.). *Environmental change and rational water use*. Argentina, pp 203-214.
- de Cabo, L., Serafini, R., Arreghini, S. & de Iorio, A. F. (2015).** On-site and full-scale applications of phytoremediation to repair aquatic ecosystems with metal excess. In: Ansari, A.A., Gill, S.S., Gill, R., Lanza, G.R. & Newman, L. (Eds.). *Management of environmental contaminants V-III*. Switzerland: Springer International Publishing Switzerland, pp. 27-40.
- Deng, H., Ye, Z. H. & Wong, M. H. (2009).** Lead, zinc and iron (Fe²⁺) tolerances in wetland plants and relation to root anatomy and spatial pattern of ROL. *Environmental and Experimental Botany*, 65: 353-362.
- Franklin, R. E., Duis, L., Brown, R. & Kemp, T. (2005).** Trace element content of selected fertilizers and micronutrient source materials. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36:1591-1609.
- Fujiwara, F. G., Gómez, D. R., Dawidowski, L., Perelman, P. & Faggi, A. (2011).** Metals associated with airborne particulate matter in road dust and tree bark collected in a megacity (Buenos Aires, Argentina). *Ecological Indicators*, 11: 240-247.
- Gherardi, M. J., Dell, B. & Huang, L. (1999).** Functional copper requirement for catechol oxidase activity in plantation *Eucalyptus* species. *Plant and Soil*, 210: 65-81.
- Gómez, N., Sierra, M. V., Cortelezzi, A. & Rodrigues Capítulo, A. (2008).** Effects of discharges from the textile industry on the biotic integrity of benthic assemblages. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 69: 472-479.
- Iorio, A. F. de, de Cabo, L., Arreghini, S., García, A., Barros, M. J., Serafini, R., Korol, S., Moretton, J. y Rendina, A. (2006).** Contaminantes en el Riachuelo y en el estuario del Río de La Plata (Buenos Aires, Argentina). Efecto de las precipitaciones. En: Gallardo Lancho, J. (Eds.). *Medio Ambiente en Iberoamérica. Visión desde la Física y la Química en los albores del siglo XXI*. Badajoz, 297-306.
- Kabata-Pendias, A. (2004).** Soil-plant transfer of trace elements-an environmental issue. *Geoderma*, 122(2-4): 143-149.
- Kabata-Pendias, A. (2011).** Trace elements in soils and plants. 4ed. Florida: CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Kandpal, G., Ram, B., Srivastava, P. C. & Singh, S. K. (2004).** Effect of metal spiking on different chemical pools and chemically extractable fractions of heavy metals in sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 106B: 133-137.
- Krzyszowska, M. (2011).** The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide

- remodeling and its role in defense strategy. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33: 35-51.
- Lahitte, H. B. y Hurrell, J. A. (1997).** Plantas de la Costa. Buenos Aires: L.O.L.A. (Literature of Latin America).
- Lewis, S., Donkin, M. E. & Depledge, M. H. (2001).** Hsp70 expression in *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) exposed to environmental stressors. *Aquatic Toxicology*, 51: 277-291.
- Magdaleno, A., Puig, A., de Cabo, L., Salinas, C., Arreghini, S., Korol, S., Bevilacqua, S., Lopez, L. & Moretton, J. (2001).** Water pollution of an urban river in Argentina. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67: 408-415.
- Martí, L., Burba, J. N. y Cavagnaro, M. (2002).** Metales pesados en fertilizantes fosfatados, nitrogenados y mixtos. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*, 34(2): 43-48.
- McBride, M. B. (1989).** Reactions controlling heavy metal solubility in soils. In: Stewart, B.A. (Ed.). *Advances in Soil Science*. New York: Springer-Verlag, 101-154
- McLaren, R. G. & Clucas, L. M. (2001).** Fractionation of copper, nickel, and zinc in metal-spiked sewage sludge. *Journal of Environmental Quality*, 30: 1968-1975.
- Merlo, C., Abril, A., Amé, M. V., Argüello, G. A., Carreras, H. A., Chiappero, M. S., Hued, A. C., Wannaz, E., Galanti, L. N., Monferrán, M. V., González, C. M. & Solís, V. M. (2011).** Integral assessment of pollution in the Suquía River (Córdoba, Argentina) as a contribution to lotic ecosystem restoration programs. *Science of the Total Environment*, 409: 5034-5045.
- Mufarrege, M. M., Hadad, H. R., Di Luca, G. A. & Maine, M. A. (2014).** Metal dynamics and tolerance of *Typha domingensis* exposed to high concentrations of Cr, Ni, and Zn. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 105: 90-96.
- Nriagu, J. O. & Pacina, J. M. (1988).** Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, 333: 134-139.
- O'Geen, A. T., Budd, R., Gan, J., Maynard, J. J., Parikh, S. J. & Dahlgren, R. A. (2010).** Mitigating nonpoint source pollution in agriculture with constructed and restored wetlands. *Advances in Agronomy*, 108: 1-76.
- Page, A. L., Miller, R. H. & Kenny, D. (1982).** *Methods of soil analysis. Part 2*. Wisconsin: American Society of Agronomy. Soil Science Society of America.
- Rearte, T. A., Bozzano, P. B., Andrade, M. L. & Fabrizio de Iorio, A. (2013).** Biosorption of Cr(III) and Pb(II) by *Schoenoplectus californicus* and insights into the binding mechanism. ISRN Chemical Engineering, 2013. Article ID 851602, 13 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/851602> Recuperado en: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/851602/> (diciembre - 2016)
- Reichman, S. M. (2002).** *The responses of plants to metal toxicity: A review focusing on copper, manganese and zinc*. Melbourne: Australian Minerals & Energy Environment Foundation (Ed.).
- Rendina, A., Barros, M. J. & de Iorio, A.F. (2006).** Phytoavailability and solid-phase distribution of chromium in a soil amended with organic matter. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 76:1031-1037.
- Rendina, A. & de Iorio, A. F. (2012).** Heavy metal partitioning in bottom sediments of the Matanza-Riachuelo River and main tributary streams. *Soil and Sediment Contamination*, 21: 62-81.
- Romano, M., Ferreyra, H., Ferreyroa, G., Molina, F.V., Caselli, A., Barberis, I., Beldoménico, P. & Uhart, M. (2016).** Lead pollution from waterfowl hunting in wetlands and rice fields in Argentina. *Science of the Total Environment*, 545-546: 104-113.
- Rosa, M., Prado, F., Hilal, M., Pagano, E. & Prado, C. (2014).** Phytoremediation: strategies of argentinean plants against stress by heavy metals. In: Alvarez, A. & Polti, M.A. (Eds.) *Bioremediation in Latin America. Current Research and Perspectives*. Switzerland: Springer, 123-134.
- Salibián, A. (2006).** Ecotoxicological assessment of the highly polluted Reconquista river of Argentina. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 185: 35-65.
- Serafini, R. J. M., Arreghini, S. & de Iorio, A. F. (2007).** Could *Sagittaria montevidensis* be used in phytoremediation strategies? In: Scarpati, O.E. & Jones, J.A.A. (Eds.). *Environmental change and rational water use*. Buenos Aires: Orientación Gráfica Editora, 203-214.
- Sposito, G. (1989).** *The chemistry of soils*. New York: Oxford University Press.
- StatSoft, Inc. (2004).** Statistical (data analysis software system), version 7. <http://www.statsoft.com>
- Taggart, M. A., Mateo, R., Charnock, J. M., Bahranmi, F., Green, A. J. & Meharg, A. A. (2009).** Arsenic rich iron plaque on macrophyte roots-an ecotoxicological risk? *Environmental Pollution*, 157: 946-954.
- Tessier, A., Campbell, P. G. C. & Bisson, M.**

(1979). Sequential extraction procedures for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51(7): 844-851.

Valea, C. I. (2011). Acumulación de metales pesados en plantas acuáticas nativas: Localización intra y extracelular: estrategias de tolerancia. Tesis de Grado de la Carrera de Ciencias Ambientales. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires.

Warren, L. A. & Haack, E. A. (2001). Biogeochemical controls on metal behavior in freshwater environments. *Earth-Science Reviews*, 54: 261-320.

Xu, Y., Sun, Q., Yi, L., Yin, X., Wang, A., Li, Y. & Chen, J. (2014). The source of natural and anthropogenic heavy metals in the sediments of the Minjiang River Estuary (SE China): Implications for historical pollution. *Science of the Total Environment*, 493: 729-736.

Recibido: 18 de abril de 2016 - Aceptado: 04 de octubre de 2016