



## EVALUACIÓN DEL EFECTO DE SALES DE Zn SOBRE LA ANATOMÍA DE RAÍCES DE *SCHOENOPLECTUS CALIFORNICUS*

### EVALUATION OF THE EFFECT OF Zn SALTS ON ROOT ANATOMY OF *SCHOENOPLECTUS CALIFORNICUS*

Arnedillo, G.; Arreghini, S.; Serafini, R.; Auguet, S.; Iorio, AF de

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Departamento de Recursos Naturales y Ambiente, Cátedra de Química Inorgánica y Analítica, Av. San Martín 4453 (1417), CABA

[arnedill@agro.uba.ar](mailto:arnedill@agro.uba.ar)

#### Resumen

El Zn es un micronutriente y también un importante contaminante en los ecosistemas acuáticos. El objetivo del ensayo fue evaluar los efectos de sales de Zn sobre el crecimiento radicular y la captación del metal por *Schoenoplectus californicus*, macrófita nativa frecuente en arroyos de la región. Se expusieron plantas a soluciones de sales de Zn en dos concentraciones (50ppm y 100ppm). Se evaluaron elongación radicular, captación de Zn y sorción sobre la superficie radicular. La tasa de elongación fue afectada por altas concentraciones de Zn y por el contraíón de la sal utilizada. El agregado de Zn al sistema aumentó su concentración en raíces, aunque el factor de bioconcentración tendió a disminuir. La coprecipitación de Zn con óxidos de Fe sobre las raíces, inducidas por las condiciones óxicas asociadas a la pérdida radial de oxígeno y al desarrollo del aerénquima, constituirían la primer barrera para atenuar el ingreso de metales tóxicos.

**Palabras clave:** Humedales, *Schoenoplectus californicus*, zinc, alteraciones anatómicas.

#### Introducción

Las zonas riparias de humedales son ecosistemas sometidos a procesos de inundación y sedimentación, donde las características aeróbicas/anaeróbicas fluctuantes del ambiente sedimentario favorecen el establecimiento de especies vegetales con rasgos ecofisiológicos distintivos, que les permiten tolerar los cambios en las condiciones redox mediante una serie de adaptaciones (Khan et al., 2016).

Los ecosistemas acuáticos reciben elementos potencialmente tóxicos que pueden acumularse y/o transferirse hacia distintos compartimentos del sistema (aguas superficiales, subterráneas, sedimentos, biota). El zinc es considerado uno de los principales contaminantes de origen industrial y de la actividad pecuaria intensiva, por su alta movilidad y toxicidad (Nicholson et al., 1999; Mateos-Naranjo et al., 2014). Los humedales se caracterizan por reciclar los excesos de nutrientes y contaminantes que ingresan al ecosistema (Khan et al., 2016).

En los humedales, las macrófitas arraigadas captan los metales disponibles en el ambiente principalmente por vía radicular (Auguet et al., 2017). La inmovilización de metales en la biomasa subterránea puede ser considerada una estrategia de tolerancia para prevenir su traslocación hacia las estructuras aéreas más sensibles (Stoltz y Greger, 2002), disminuyendo secundariamente su movilidad hacia otros compartimentos del ecosistema (Arreghini et al., 2017). *Schoenoplectus californicus* (C. A. Mey) Sójak (junco) es una macrófita arraigada nativa de la familia Ciperaceae y tolerante a concentraciones altas de metales (Arreghini et al., 2017).

El objetivo del ensayo fue evaluar los efectos de sales de Zn sobre el crecimiento radicular y la captación del metal por *S. californicus*, macrófita nativa frecuente en arroyos de la región.

#### Materiales y Métodos

Se colectaron plantas de *S. californicus* de un sitio no contaminado, la ribera del arroyo Durazno (provincia de Buenos Aires) (Arreghini et al., 2007) (Fig. 1.a), y se aclimataron a las condiciones experimentales durante un mes en recipientes plásticos con agua corriente, sedimentos del sitio de recolección y a temperatura ambiente. Posteriormente, los rizomas y las

raíces se lavaron con agua corriente. Se prepararon recipientes plásticos que constituyeron cada uno una unidad experimental. Se realizaron tratamientos con sales de  $ZnCl_2$ ,  $Zn(NO_3)_2$  y  $ZnSO_4$ , en dos concentraciones del metal, 50 mgZn/L y 100 mgZn/L, agregadas mediante una única aplicación al inicio del ensayo. Los controles contenían los iones no metálicos de las sales de Zn, para evaluar el efecto de los contraiones. Se expusieron las plantas durante 30 días. Cada unidad experimental contó con solución nutritiva Hoagland como medio de crecimiento. Para evaluar la tasa de crecimiento radicular, las raíces fueron individualizadas con anillos de diferentes colores y se midió semanalmente la longitud.

Al término del ensayo las plantas se separaron en raíces, rizomas y vástagos y se lavaron con agua corriente y agua destilada. Se secaron en estufa a 70°C hasta peso constante y se pesaron. Para determinar el Zn en raíces el material seco fue molido y digerido mediante mineralización ácida con  $HNO_3$  y  $HClO_4$  concentrados. Se tomaron muestras de la solución de exposición para determinar la concentración total de Zn, previa mineralización ácida con  $HNO_3$ ,  $HClO_4$  y HCl (APHA, 1992). Todas las determinaciones de metales pesados se realizaron con un espectrofotómetro de Absorción Atómica (Perkin Elmer AAnalyst 200). Para evaluar la captación del metal por las macrófitas se calculó el factor de bioconcentración (BCF, por su sigla en inglés) como la relación de la concentración de metal en raíz y la concentración de metal en agua. Se determinó la concentración de Fe y Zn sorbidos sobre la superficie de raíces de los tratamientos con  $Cl^-$  mediante la extracción con DCB, según Taylor y Crowder (1983).

### Resultados

La tasa de elongación de la raíz suele ser aceptada como un indicador de tolerancia para muchas especies vegetales, y se ha reportado la sensibilidad de este método a iones metálicos como el Zn, Pb, Cd, Cr, Cu, entre otros. Este método se basa en la medición de la longitud de las raíces de plantas o semillas crecidas en el medio de tratamiento y su comparación con las crecidas en un medio control. La tasa de elongación (mm/día) de raíces de *S. californicus* resultó sensible al contraión de la sal utilizada. Entre los tratamientos controles de sales, sólo  $C_{Cl}$  mostró una tasa de elongación similar a la de C (sólo medio nutritivo, sin agregado de sales), mientras que en  $C_{NO_3}$ ,  $Zn50NO_3$ ,  $C_{SO_4}$  y  $Zn100SO_4$  las tasas promedio de elongación de raíz fueron mayores (Fig. 1.b). Esto sugiere un efecto promotor del crecimiento en los tratamientos con agregado de nutrientes (nitrógeno y azufre).

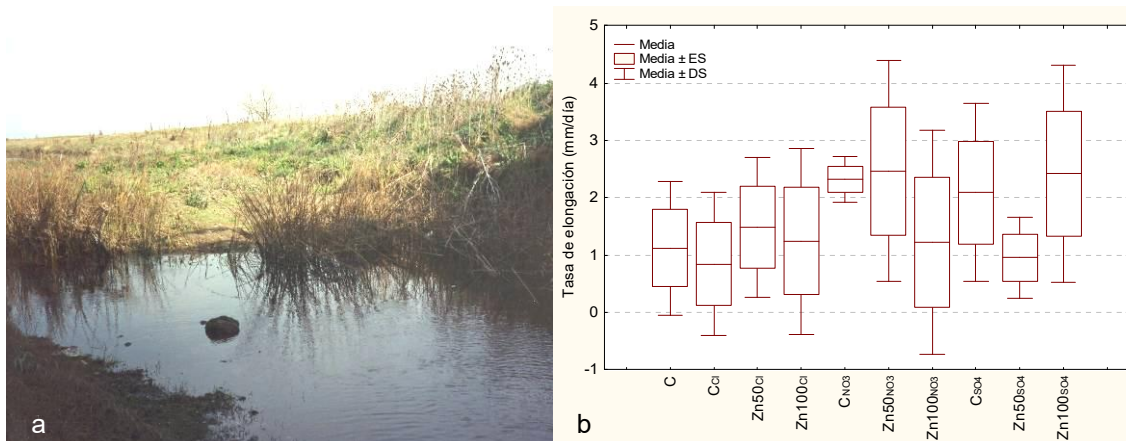


Figura 1. Arroyo Durazno (a) y diagrama de cajas con la media, la media  $\pm$  el error estándar, la media  $\pm$  el desvío estándar y los valores atípicos de la tasa de elongación de raíces de los distintos tratamientos (b).

Las concentraciones de Zn en el agua del tratamiento control C y los tratamientos control de cada sal ( $C_{Cl}$ ,  $C_{NO_3}$  y  $C_{SO_4}$ ) no difirieron significativamente entre sí ( $0,28 \pm 0,04$  mgZn/L). Las concentraciones de Zn en agua de los tratamientos con agregado de metal difirieron entre sí y con los tratamientos control. Las concentraciones más altas de Zn se encontraron en los tratamientos  $Zn100_{Cl}$  y  $Zn100_{SO_4}$  ( $p < 0,05$ ), mientras que la concentración del tratamiento  $Zn100_{NO_3}$  no difirió significativamente de la de los tratamientos  $Zn50_{Cl}$  y  $Zn50_{SO_4}$ , y la concentración de Zn del tratamiento  $Zn50_{NO_3}$  fue la menor de todos los tratamientos con agregado del metal ( $p < 0,01$ ) (Fig. 2.a). En las raíces, la concentración de Zn de los tratamientos con metal agregado fue significativamente mayor a la de los tratamientos control

( $p < 0,01$ ); entre estos últimos, las raíces del tratamiento  $C_{Cl}$  mostraron la concentración más baja (Fig. 2.b). En el tratamiento con agregado de Zn en la forma de sal de nitrato ( $Zn50_{NO_3}$  y  $Zn100_{NO_3}$ ) la concentración de Zn en raíz fue mayor (aunque no se observaron diferencias significativas) que en los tratamientos con sales de cloruro y de sulfato (Fig. 2.b). Dado que en los tratamientos con sal de nitrato se registraron además las menores concentraciones de Zn en agua (Fig. 2.a), esto permite sugerir que las altas concentraciones de este nutriente podrían promover la captación del metal por parte de las raíces.

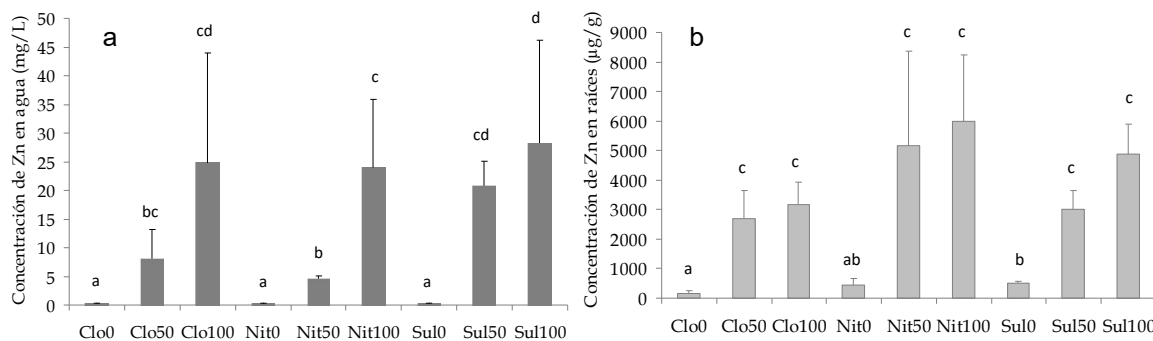


Figura 2. Concentración total de Zn en agua (a) y en raíces (b) de los tratamientos al término del ensayo.

Si bien el agregado de Zn en el sistema aumentó la concentración de este metal en la raíz, este incremento no fue proporcional a la dosis suministrada. En los distintos tratamientos se observó una tendencia general a la disminución del factor de bioconcentración con el incremento de la concentración en el medio. Esta disminución podría ser el resultado tanto de una saturación de los sitios de unión del metal en la raíz o bien de un conjunto de estrategias de respuesta por parte de la planta para prevenir la captación del metal y su traslocación hacia estructuras más sensibles. Por otra parte, se observaron diferencias en los valores de BCF calculados para las distintas sales, encontrándose para las plantas crecidas en los tratamientos con el anión nitrato valores marcadamente mayores en comparación con los de las plantas crecidas con sales de cloruro y de sulfato (Tabla 1).

Tabla 1. Valores de BCF de los distintos tratamientos.

$C_{Cl}$	$Zn50_{Cl}$	$Zn100_{Cl}$	$C_{NO_3}$	$Zn50_{NO_3}$	$Zn100_{NO_3}$	$C_{SO_4}$	$Zn50_{SO_4}$	$Zn100_{SO_4}$
619±278	499±429	170±94	1737±767	1112±666	298±156	1884±174	150±51	212±98

La pérdida radial de oxígeno favorece la oxidación del  $Fe^{2+}$  (de mayor solubilidad y movilidad ambiental) y su precipitación como óxidos hidratados de  $Fe^{3+}$  ( $Fe^{3+}OOH$ ) sobre la superficie de las raíces, donde nutrientes esenciales como P o micronutrientes metálicos potencialmente tóxicos a elevadas concentraciones como el Zn pueden ser retenidos secundariamente por procesos de complejación y coprecipitación.

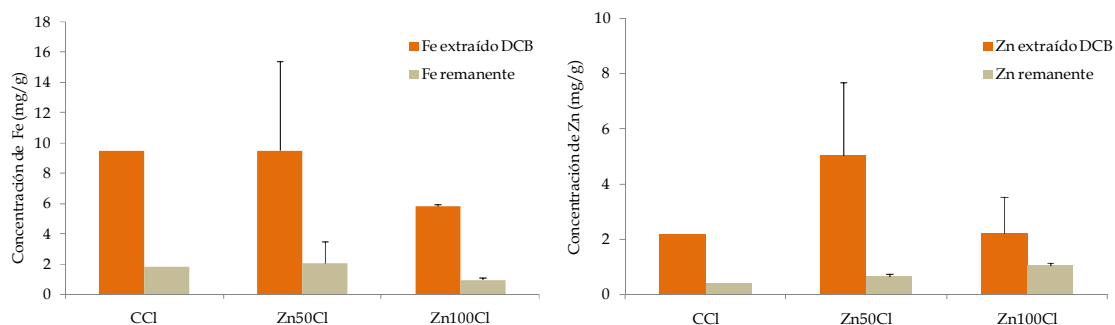


Figura 3. Concentraciones de Fe y Zn en las placas de Fe (extraído con DCB) e internalizadas (remanente) de raíces de *S. californicus* de los tratamientos con Cl.



La extracción con DCB permitió estimar la concentración de Fe sorbido sobre las raíces (placas de Fe), no observándose diferencias significativas entre los tratamientos. No obstante, en Zn<sub>100Cl</sub> la concentración media (5,9 mgFe/g) fue menor que en los restantes tratamientos (9,5 mgFe/g). En todos los casos la concentración de Fe remanente (no extraíble por DCB) fue aproximadamente de 2 mg/g (Fig. 3). Se encontró además una mayor concentración de Zn en las placas de hierro (extraídas con DCB), alcanzándose valores entre 2,2 y 5 mgZn/g. En todos los casos estos valores resultaron superiores a la concentración de Zn remanente. Estos resultados sugieren la existencia de mecanismos de atenuación del ingreso de metales potencialmente tóxicos (Fe<sup>2+</sup> y Zn<sup>2+</sup>) hacia el interior de las células de la raíz, mediados por la pérdida radial de oxígeno y el desarrollo de aerénquima que induce la formación de las placas de hierro.

## Conclusiones

La tasa de elongación resultó sensible al contraión de la sal utilizada, notándose un incremento en presencia de nutrientes como N y S. La presencia de nitrato como contraión tendió a promover la captación de Zn en las raíces y una mejor condición en el estado de éstas comparadas con las crecidas en sales de cloruro o sulfato. El agregado de Zn al sistema promovió un aumento de la concentración del metal en los tejidos radiculares, aunque en menor proporción a la encontrada en el medio (disminución de BCF). La coprecipitación de metales, inducida por las condiciones óxicas radiculares asociadas a la pérdida radial de oxígeno y al desarrollo del aerénquima, constituiría la primer barrera que presentaría la planta para atenuar el ingreso de metales tóxicos. La tolerancia de *Schoenoplectus californicus* a concentraciones de metal superiores a las encontradas en sitios no contaminados puede ser el resultado de un conjunto de factores ambientales y propios de la planta que facilitan su desarrollo en ambientes contaminados.

## Bibliografía

- APHA - AWWA - WPCF.** 1992. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Ed. Díaz de Santos. S. A. Madrid, España.
- Arreghini S, de Cabo L, Seoane R, Tomazin N, Serafini R, Iorio AF de.** 2007. A methodological approach to water quality assessment in an ungauged basin, Buenos Aires, Argentina. *Geojournal* 70: 281-288.
- Arreghini S, de Cabo L, Serafini R, Iorio AF de.** 2017. Effect of the combined addition of Zn and Pb on partitioning in sediments and their accumulation by the emergent macrophyte *Schoenoplectus californicus*. *Environmental Science and Pollution Research* 24(9): 8098-8107.
- Auguet S, Arreghini S, Serafini R, Arambarri A, Iorio AF de.** 2017. Efecto del stress por plomo en *Ludwigia peploides* e *Hydrocotyle ranunculooides*. *Biología Acuática* 32: 1-15.
- Khan N, Seshadri B, Bolan N, Saint CP, Kirkham MB, Chowdhury S, Yamaguchi N, Lee DY, Li G, Kunhikrishnan A, Qi F, Karunanithi R, Qiu R, Zhu Y-G, Syu CH.** 2016. Root Iron Plaque on Wetland Plants as a Dynamic Pool of Nutrients and Contaminants. *Advances in Agronomy*, 1-96.
- Mateos-Naranjo E, Castellanos EM, Perez-Martin A.** 2014. Zinc tolerance and accumulation in the halophytic species *Juncus acutus*. *Environmental and Experimental Botany* 100: 114-121.
- Nicholson FA, Chambers BJ, Williams JR, Unwin RJ.** 1999. Heavy metal contents of livestock feeds and animal manures in England and Wales. *Bioresource Technology* 70:23-31.
- Stoltz E, Greger M.** 2002. Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings. *Environmental and Experimental Botany* 47: 271-280.
- Taylor G, Crowder A.** 1983. Use of the DCB technique for extraction of hydrous iron oxides from roots of wetland plants. *American Journal of Botany* 70(8): 1254-1257.