

## **TOLERANCIA DE *Dichondra sericea* (Swartz.) EN DISTINTAS CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS**

**S. Albarracín Franco, G. Larenas Parada, M. de Viana & M. Quiroga.**

INEAH (Instituto de Ecología y Ambiente Humano). Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta. Buenos Aires N° 177, 4400, Salta, Argentina. [albarracin\\_silvia@yahoo.com.ar](mailto:albarracin_silvia@yahoo.com.ar)

**RESUMEN** El conocimiento sobre la tolerancia de las especies vegetales a contaminantes de naturaleza inorgánica, aún es materia de intensa investigación. Los metales pesados constituyen elementos peligrosos para el ambiente; se acumulan en los seres vivos y se biomagnifican a través de las cadenas tróficas. Se llevó a cabo un bioensayo de laboratorio con un diseño en bloques completamente aleatorizado con dos factores: contaminantes y nutrientes (con y sin adición de solución Rorison). Se encontraron diferencias en el porcentaje y velocidad de germinación y en el porcentaje de sobrevivientes en los distintos contaminantes, pero no se encontraron diferencias con la adición o no de nutrientes. Los mayores valores de germinación y velocidad de germinación se obtuvieron en los tratamientos control y cadmio. En este último, las plántulas presentaron una respuesta fenotípica diferente del resto, observándose síntomas de clorosis en las hojas (manchas amarillentas). Concluimos que la especie es tolerante al cadmio.

**Palabras claves:** metales pesados, contaminación, especies tolerantes

### **INTRODUCCIÓN**

El contenido de metales pesados en suelos, debería ser una función de la composición del material original y de los procesos edafogénicos que dan lugar al suelo (Porta Casanellas et al., 1994). Sin embargo, las actividades humanas incrementan el contenido de estos metales en cantidades considerables, siendo ésta, la causa más frecuente de las concentraciones tóxicas (Carpena & Bernal, 2007).

A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales pesados persisten como tóxicos en el ambiente, ya que no pueden ser química o biológicamente degradados (Wade et al., 1993). En bajas concentraciones, diversos metales pesados tales como Mn, Fe, Zn, Ni, Cu y Mo, son micronutrientes esenciales para las plantas (Taiz & Zeiger, 1998), pero cuando sus concentraciones son elevadas causan una variedad de problemas ambientales, incluyendo toxicidad a las plantas, animales y humanos (Barazani et al., 2004; Carpena & Bernal, 2007). En altas concentraciones los metales pesados pueden causar daños oxidativos en las plantas (Stohs & Bagehi, 1995), incluyendo el incremento de la peroxidación de lípidos, oxidaciones de proteínas y reductores en las células (Taiz & Zeiger, 1998). Debido a que los contaminantes inorgánicos no pueden ser mineralizados, estos compuestos deben ser removidos físicamente desde el sistema o ser transformados en formas biológicamente inertes (Cunningham & Ow, 1996).

El impacto de los metales pesados en el ambiente ha promovido la investigación orientada al desarrollo de alternativas como sistemas de purificación o de remediación empleando organismos como bacterias y/o plantas, de menor costo comparativo (López Errasquín & Vazquez, 2003). En este aspecto, algunas plantas tienen la capacidad de absorber, secuestrar o degradar directa o indirectamente algunos tóxicos, y una vez incorporados, esos compuestos pueden tener múltiples caminos, como la volatilización o bien la acumulación en los tejidos (Cunningham & Ow, 1996). Las células vegetales expuestas a metales pesados son capaces de sintetizar polipéptidos, que secuestran los iones metálicos y son conocidos como fitoquelatinas y metalotioneinas (Navarro Aviño et al., 2007). Se piensa que estos metales tóxicos entran a la célula con el mismo sistema que los iones fisiológicamente importantes, tales como el Cu y el Zn (Steffens, 1990). Conocer la tolerancia de distintas especies es una característica primordial para su posible empleo en fitorremediación (Vogeli-Lange & Wagner, 1994; Ortiz et al., 1995; Chaney et al., 1997).

### **MATERIALES Y METODOS**

*Dichondra sericea* Swartz, (Convolvulaceae).

Es una hierba perenne, rastrera y estolonífera. Los tallos son cilíndricos y radicales. La lámina foliar es orbicular, entera, de base cordada y largamente peciolada. Las flores son solitarias. Cáliz 5 elíptico, pubescente en la cara externa y persistente en el fruto. Corola 5 acampanada, con lóbulos anchamente lanceolados, agudos y glabros. Estambres 5 con filamentos filiformes. Ovario bicarpelar y biovulado. El fruto es una cápsula, las semillas son ovoideas, pardas y glabras. Es cosmopolita, se distribuye en regiones cálidas y/o templadas, principalmente de América. En Salta se

incrementó el cultivo de esta especie en parques y jardines para formar céspedes, donde no prosperan otras especies por falta de luz. Al referirse a esta especie (Martinez Crovetto, 1981) comenta que en el noroeste de Corrientes se usa la planta para curar granos, llagas y en gargarismos contra amigdalitis; en cura de eczemas y quemaduras. Los indios Vilelas la utilizan como estomáquico y digestivo.

#### Bioensayo

Se realizó un experimento en germinador con fotoperíodo de 12 horas, temperatura media de  $25 \pm 2.2^\circ\text{C}$  y humedad relativa media de  $60 \pm 5.4\%$ , siguiendo un diseño en bloques completos al azar con dos factores: contaminantes y nutrientes, con cuatro repeticiones para cada tratamiento. Las concentraciones usadas de cadmio, cinc y plomo son las mencionadas por Ebbs et al. (1997) al estudiar suelos con elevada contaminación de estos metales que son los causantes de la mortandad de la mayoría de los vegetales. En cada unidad experimental (recipientes plásticos de 10 X 15 X 3 cm), se colocaron 30 semillas (las semillas se lavaron con una solución de NaClO al 10 % para evitar el ataque de hongos durante el experimento) que se sembraron en 200 gr de arena (sustrato) esterilizada en autoclave (1 atm y  $120^\circ\text{C}$ , durante 1 hora y posteriormente secada en estufa a  $130^\circ\text{C}$  durante 18 hs). El sustrato se mezcló con las concentraciones correspondientes del contaminante. El riego se realizó diariamente con agua destilada y se complementó una vez por semana con 55 ml de solución nutritiva Rorisson, a partir de la emergencia de las plántulas (Hendry & Grime 1993).

Durante un período de 30 días se registró diariamente el número de semillas germinadas, tomando como indicador el brote de la radícula.

#### Análisis de los datos

Para cada tratamiento se estimó el porcentaje y la velocidad de germinación hasta los 30 días y el porcentaje de supervivientes hasta finalizar el experimento (110 días). La velocidad de germinación (S), se estimó según Ahmed & Wardle (1994) como:

$$S = [N_1/1 + N_2/2 + N_3/3 + \dots + N_n/n] \times 100$$

donde  $N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$  es la proporción de semillas que germinaron en los días 1, 2, 3, ..., n durante el bioensayo. S varía entre 100 (si todas las semillas germinan el primer día) y 0 (si las semillas no germinaron al final del experimento).

Las variables respuesta (velocidad de germinación, porcentaje de germinación y sobrevivientes a los 110 días), se compararon para las especies y los tratamientos con MANOVA de dos factores.

### RESULTADOS

No se encontraron diferencias entre bloques en el porcentaje de germinadas, velocidad de germinación y porcentaje de supervivientes ( $F = 0.771, P = 0.38; F = 1.47, P = 0.23; F = 0.886, P = 0.351$ , respectivamente). Tampoco se encontraron diferencias en el porcentaje de germinación y supervivientes ni en la velocidad de germinación ( $F = 0.771, P = 0.384; F = 0.886, P = 0.351; F = 1.472, P = 0.230$  respectivamente) con relación a la adición de nutrientes.

La velocidad y el porcentaje de germinación en los distintos contaminantes presentó diferencias altamente significativas ( $F = 40.262, P < 0.0005; F = 28.754, P < 0.0005$ , respectivamente), al igual que en el porcentaje de supervivientes ( $F = 9.227, P < 0.0005$ ) (Tabla 1). Los tratamientos control y cadmio en ambas concentraciones presentaron las mayores germinaciones. Mínimas germinaciones se registraron en los tratamientos con plomo. Los tratamientos con cinc inhibieron la germinación (Tabla 1). Se registraron respuestas fenotípicas notorias en el tratamiento con cadmio. A partir de la segunda semana, los ápices de los cotiledones y de las hojas presentaron clorosis, que se mantuvo hasta el final del experimento (110 días).

Tratamiento	Velocidad de germinación	Germinación (%)	Supervivencia (%)
Control c/n	6.8 (0.7)	58.3 (8.4)	77.8 (10.9)
Control s/n	6.1 (1.1)	59.2 (8.2)	68 (11.4)
Cadmio (20 ppm) c/n	7 (0.6)	69.2 (4.9)	86 (3.5)
Cadmio (20 ppm) s/n	4.6 (0.7)	48.3 (10.8)	57.6 (9.9)
Cadmio (80 ppm) c/n	7.6 (0.6)	72.5 (7.3)	76.3 (12.1)
Cadmio (80 ppm) s/n	3.8 (0.7)	41.7 (10.9)	46.1 (5.6)
Plomo (1250 ppm) c/n	0.2 (0.2)	1.6 (1.6)	25 (25)
Plomo (1250 ppm) s/n	0.02 (0.02)	0.8 (0.8)	25 (25)
Plomo (5000 ppm) c/n	-	-	-
Plomo (5000 ppm) s/n	-	-	-
Cinc (2340 ppm) c/n	-	-	-
Cinc (2340 ppm) s/n	-	-	-
Cinc (5850 ppm) c/n	-	-	-
Cinc (5850 ppm) s/n	-	-	-

Tabla 1. Efecto de los contaminantes en la velocidad, porcentaje de germinación y en la supervivencia de *Dichondra sericea* (promedio y error estándar entre paréntesis). Referencia c/n: con nutrientes, s/n: sin nutriente

*Dichondra*

## DISCUSIÓN

Las concentraciones de metales pesados utilizadas en este trabajo superan los niveles establecidos en el decreto reglamentario 813/93 de la Ley 24.058 de residuos peligrosos.

En los últimos años, se incrementó el estudio del potencial de especies para ser empleadas en fitorremediación. Esto destaca la importancia de trabajos tendientes a detectar especies que resulten tolerantes desde la etapa de la germinación y el establecimiento, a distintos contaminantes, en especial los metales pesados, que se acumulan en los suelos como producto principalmente de actividades de minería o de desechos industriales. (Steffens, 1990; Vázquez et al., 1994; Cunningham y Ow, 1996; Wiltse et al., 1998; Larenas Parada, 2002; Becerril et al., 2007).

Los nutrientes podrían actuar inmovilizando los metales pesados o bien como agentes quelantes, como el EDTA (Hendry & Grime 1993, Cunningham & Ow, 1996; Huang & Cunningham, 1996, Ebbs et al., 1997; Wiltse et al., 1998). Sin embargo, en este trabajo no encontramos respuesta diferencial a la adición de la solución de nutrientes, lo que podría deberse al tiempo que duró el experimento.

*Dichondra sericea* es tolerante al cadmio, aún en las concentraciones de 80ppm, el doble de la empleada por Ebbs et al. (1997). Ellos encontraron que en suelos con 40 ppm de cadmio pueden crecer especies del género Brassica (*B. carinata* y *B. juncea*), mostrando también síntomas de clorosis después de 4 semanas de exposición a este metal. Resultados similares se reportaron con *Tithonia tubaeformis* (Asteraceae) (Larenas Parada & de Viana, en preparación) y con *Thlaspi caerulescens* (Brassicaceae) que actúa como hiperacumulador (Baker & Walker 1990).

El plomo, aún en la menor concentración es tóxico para la especie, evidenciado por su baja y tardía germinación, además de su aspecto más pequeño. La mayor concentración no permitió la germinación.

Becerril et al. (2007) con *T. caerulescens* y *Rumex acetosa*, Ebbs et al. (1997) con *B. juncea* y *B. carinata*; y Brown et al. (1994) con *T. caerulescens* obtuvieron buenos resultados en suelos contaminados con cinc (11700ppm), a diferencia de los resultados con *D. sericea* que no germinaron ni aún a la menor concentración empleada (5850ppm).

Este estudio muestra la tolerancia de la especie al cadmio, por lo que resulta esencial seguir con esta investigación, ya que la importancia de este estudio radica no sólo en la tolerancia de la especie, sino, que la misma es nativa y puede ser empleada en conjunto con otras especies nativas de ciclo de vida más largo y con crecimiento radicular a mayor profundidad en el suelo.

## REFERENCIAS

- Baker, A. J & P.L Walker. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. Heavy Metal Tolerance in Plants: Evolutionary Aspects. A. J. Shaw (ed.) 155-177, 1990.
- Barazani, O., P. Sathiyamoorthy, U. Manandhar, R. Vulkan & A. Goldhirsh. Heavy metal accumulation by *Nicotiana glauca* Graham in solid waste disposal site. *Chemosphere* 54: 867-872, 2004.
- Becerril, J., O. Barrutia, J. García Plazaola, A. Hernández, J. Olano & C. Garbisu. Especies nativas de suelos contaminados por metales: aspectos ecofisiológicos y su uso en fitorremediación. *Ecosistemas* 16 (2): 10-25, 2007.
- Brown, S. L., R.L Chaney, J.S Angle & A.J Baker. Zinc and cadmium uptake by the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Science Society of America Journal* 59:125-133, 1994.
- Carpena, R. & P. Bernal. Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. *Ecosistemas* 16 (2): 1-3, 2007.
- Chaney, R., M. Malik, Y. Li, S. Brown, E. Brewer, J. Scott Angle & J. Baker. Phytoremediation of soil metals. [www.soils.wisc.edu/~barak/temp/opin\\_fin.htm](http://www.soils.wisc.edu/~barak/temp/opin_fin.htm) 4 de marzo de 2008.
- Cunningham, S & D. Ow. Promises and prospects of phytoremediation. *Plant Physiology* 110: 715-719, 1996.
- Ley N° 24.051 de Residuos Peligrosos, Decreto de Reglamentación N° 831/93. Boletín Oficial de la República Argentina N° 27.630 (3/05/93).
- Ebbs S., M. Lasat, D. Brady, J. Cornish, R. Gordon & L. Kochian. Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated soil. *Journal of Environmental Quality*. 26: 1424-1430, 1997.
- Hendry, G. & J. Grime. Methods in comparative plant ecology. Chapman & Hall. 1993.
- Huang, J. & S. Cunningham. Lead phytoextraction: Species variation in lead uptake and translocation. *New Phytologist* 134: 75-84, 1996.
- Larenas Parada, G. Invasiones Biológicas: Banco de semillas del pasto cubano (*Tithonia tubaeformis*), características de los suelos y germinabilidad (Salta-Capital). Tesis de Licenciatura. Escuela de Biología. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta. Argentina. 2002.
- Lopez Errasquin, E & C. Vazquez. Tolerance and uptake of heavy metals by *Trichoderma atroviride* isolated from sludge. *Chemosphere* 50: 137-143, 2003.
- Navarro Aviño, J. I Aguilar Alonso & J. R. López Moya. Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Ecosistemas* 16 (2): 10-25, 2007.
- Novara, L. Guías ilustradas de clases. Aportes Botánicos de Salta-Serie didáctica. Herbario MCNS Facultad de Ciencias Naturales- Universidad Nacional de Salta. 1997.
- Ortiz, D., T. Ruscitti, K. F. McCue, & D. W Ow. 1995. Transport of metal-binding peptides by HMT1, a fission yeast ABC-type vacuolar membrane protein. *Journal Biological Chemistry* 270: 4721-4728, 1995.
- Porta Casanellas, J., R. López Acevedo & C. Roquero de Laburu. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Ediciones Mundi-Prensa. 1994.
- Steffens, J. C. Heavy metal stress and the phytochelatin response. Stress Responses in Plants: Adaptation and Acclimatation

Mechanisms, 377-394, 1990.

Stohs, S. & D Bagchi. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. *Free Radical Biology & Medicine* 18, 321-336, 1995.

SYSTAT. SYSTAT for Windows: statistics, version 5 edition. SYSTAT, Evanston, Illinois, USA. 1992.

Taiz, L. & E. Zeiger. Mineral nutrition. In: *Plant Physiology*, second ed. Sinauer Associates Inc, Sunderland, MA 103-124, 1998.

Vazquez, M., C. Poschenreider, J. Barceló, A. Baker, P. Hatton & G. Cope. Compartmentation of zinc in roots and leaves of the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *J & C Presl. Botanica Acta* 107: 243-250, 1994.

Vogely - Lange, R & G. Wagner. Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves: implication of a transport function for cadmium binding peptides. *Plant Physiology*. 92: 1086-1093, 1994.

Wade, M., B. Davis, J. Carlisle, A. Klein & L. Valoppi. Environmental transformation of toxic metals. *Occupational Medicine* 8: 575-601, 1993.

Wiltse, C., W. Rooney, Z. Chen, A. Schwab & M. Banks. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among alfalfa genotypes. *Journal of Environmental Quality* 27: 169-173, 1993.