

EFFECTOS EN EL NIVEL FOTOSINTÉTICO EN TRES ESPECIES DE PLANTAS ACUÁTICAS SOMETIDAS A UN TRATAMIENTO CON AGUA RESIDUAL DE ORIGEN MINERO^{1*}

Marco Tulio Jaramillo Salazar², Yelicza Marín Giraldo³ & Diana Marcela Ocampo Serna⁴

Resumen

Objetivo: Analizar los cambios fotosintéticos de las especies *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. y *Salvinia auriculata* Aubl. sometidas a un tratamiento con agua residual de mina. **Metodología:** Se expuso a las plantas a un tratamiento a escala de laboratorio con agua residual proveniente de una región minera de Caldas (Colombia) durante seis días (144 horas). Los componentes principales del agua se determinaron con test Nanocolor y los cambios fotosintéticos en las plantas durante la exposición al agua residual se determinaron por métodos espectrofotométricos. **Resultados:** El agua residual de mina es una matriz compleja cuyo componente mayoritario es el cianuro (CN⁻) con un valor de 175,00 mg/L superando las disposiciones del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Colombia; las relaciones de clorofila a/b y carotenos/clorofila total indicaron que las plantas *E. crassipes* y *P. stratiotes* respondieron al tratamiento modificando las concentraciones de los pigmentos analizados. **Conclusiones:** La planta *E. crassipes* disminuyó la relación clorofila a/b como indicador de estrés, la planta *P. stratiotes* aumentó la relación carotenos/clorofila total aumentando la síntesis de carotenos para proteger los tejidos contra el estrés y la planta *S. auriculata* fue la menos afectada, lo que se traduce en una alta tolerancia o adaptación de esta última especie a los cambios ambientales.

Palabras clave: Fitorremediación, cambios fotosintéticos, clorofila a, clorofila b, carotenos.

* FR: 2-IX-17. FA: 11-XII-17.

¹ Hace parte del Macroproyecto: "Remoción de contaminantes y de la toxicidad del agua residual del proceso de cianuración de oro de la mina La Coqueta por macrófitas acuáticas". Aprobado y financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones y Posgrados de la Universidad de Caldas

² Departamento de Química. Magister en Ingeniería Ambiental. Coordinador Grupo de Investigación Estudios Ambientales en Agua y Suelo (GEAAS). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Caldas. A.A. 275. Calle 65 No 26-10, Manizales, Colombia. E-mail: marco.jaramillo@ucaldas.edu.co

³ Departamento de Química. Magister en Química. Integrante Grupo de Investigación Estudios Ambientales en Agua y Suelo (GEAAS). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Caldas. E-mail: yelicza.marin@ucaldas.edu.co

⁴ Departamento de Química. Doctora en Ciencias-Química. Integrante Grupo de Investigación Estudios Ambientales en Agua y Suelo (GEAAS). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. E-mail: diana.ocampo@ucaldas.edu.co

CÓMO CITAR:

JARAMILLO-SALAZAR., M.T., MARÍN-GIRALDO, Y., & OCAMPO-SERNA, D.M., 2018.- Efectos en el nivel fotosintético en tres especies de plantas acuáticas sometidas a un tratamiento con agua residual de origen minero. Bol.Cient.Mus.Hist.Nat.U.de Caldas, 22 (1): 43-57. DOI: 10.17151/bccm.2018.22.1.3

EFFECTS ON THE PHOTOSYNTHETIC LEVEL IN THREE SPECIES OF AQUATIC PLANTS TREATED WITH WASTE WATER OF MINING ORIGIN

Objective: To analyze the photosynthetic changes of the species *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. and *Salvinia auriculata* Aubl. subjected to a treatment with mining wastewater. **Methodology:** The plants were exposed to a laboratory-scale treatment with residual water from a mining region of Caldas (Colombia) for six days (144 hours). The main components of the water were determined with Nanocolor test and the photosynthetic changes in the plants during the exposure to the wastewater were determined by spectrophotometric methods. **Results:** Mining wastewater is a complex matrix whose major component is cyanide (CN⁻) with a value of 175.00 mg/L surpassing the provisions of the Ministry of Environment and Sustainable Development of Colombia. The relationship of chlorophyll a/b and carotenes/total chlorophyll indicated that the plants *E. crassipes* and *P. stratiotes* responded to the treatment by modifying the concentrations of the pigments analyzed. **Conclusions:** The *E. crassipes* decreased the chlorophyll a/b ratio as an indicator of stress; the *P. stratiotes* increased the caroteno/total chlorophyll ratio, increasing the synthesis of carotenes to protect the tissues against stress, and the *S. auriculata* was the least affected, which translates into a high tolerance or adaptation of the latter species to environmental changes.

Key words: chlorophyll a, chlorophyll b, carotenes, photosynthetic changes, phytoremediation.

INTRODUCCIÓN

Las plantas acuáticas se han utilizado en procesos de fitorremediación (LARA & MARTELO, 2012), porque pueden absorber algunas sustancias disueltas consideradas como contaminantes, aprovechando su capacidad de almacenar y eliminar compuestos tóxicos mediante procesos metabólicos (RASHED & SOLTAN 2003; FASIDI & ODJEGBA 2004; EBEL *et al.*, 2006; GÓMEZ *et al.*, 2008; KUMAR *et al.*, 2008; BASANT *et al.*, 2009; GONZÁLEZ *et al.*, 2010; DHIR *et al.*, 2011; FLORES & JARAMILLO 2012; DHIR & SRIVASTAVA 2013; FARNESE, 2013; MAITI & PRASAD, 2016). Los procesos de fitorremediación se basan en los mecanismos fisiológicos básicos que ocurren en las plantas y en los microorganismos asociados a ellas, entre los que se destacan: la transpiración, fotosíntesis, metabolismo y nutrición (SERRANO, 2006). La fotosíntesis es un fenómeno clave que contribuye principalmente al crecimiento y desarrollo de las plantas y la energía química gastada en una serie de procesos metabólicos es producida a partir de la fotosíntesis, que es capaz de convertir la energía luminosa en una forma química de energía utilizable (ASHRAF & HARRIS, 2013).

Las plantas responden de forma morfológica y fisiológica ante las condiciones ambientales en las que se desarrollan (HANOVER & TOWNSEND, 1972), modificando la velocidad de crecimiento, la producción de estructuras secundarias y la cantidad de pigmentos; así, las plantas sometidas a cualquier tipo de estrés tienden a perder capacidad fotosintética y disminuir el contenido de clorofila de sus hojas (CARTER & KNAPP, 2001). La clorofila es uno de los principales indicadores de la capacidad fotosintética en plantas y la cuantificación de los pigmentos fotosintéticos contribuye a determinar el comportamiento de las plantas durante su ciclo de desarrollo en presencia de contaminantes (CRUZ *et al.*, 2009), así, la *clorofila a* es el pigmento principal en la fotosíntesis, considerado como un pigmento activo cuya función es transformar la energía lumínica en energía química, para que sea utilizada en el crecimiento de las plantas; por su parte, la *clorofila b* es un pigmento accesorio, que absorbe la luz en longitudes de onda diferentes a la *clorofila a* (longitud de onda *clorofila a* = 664, longitud de onda *clorofila b* = 647); en tanto, la luz se transfiere después a la *clorofila a* que la transforma en energía; por lo anterior, se considera a la *clorofila b* como parte de las antenas colectoras (CAMBRÓN *et al.*, 2011). En este sentido, se considera la clorofila como una medida indirecta del estado nutricional de la planta (GOEL *et al.*, 2004). La reducción de la clorofila perjudica el proceso fotosintético conduciendo a una reducción en la fijación de carbono, de ahí la importancia de determinar el contenido en clorofilas de las plantas cuando las condiciones medioambientales no son óptimas (GONZÁLEZ, 2009). La concentración de clorofila en una planta es una de las variables que se deben tomar en consideración para determinar su estatus fisiológico (CALLEJAS *et al.*, 2013), de allí que las plantas pueden responder a diferentes fenómenos como el estrés hídrico y lumínico, exceso de salinidad, daños por ozono o por insectos, entre otros; modificando su concentración interna como respuesta a cualquier condición medioambiental a la que sea sometida. Por su parte, los carotenoides tienen una función antioxidante y además actúan como pigmentos accesorios de la fotosíntesis cuando las plantas se someten a condiciones de estrés, bajo estas condiciones se aumenta la relación carotenos/clorofila total, como reflejo de una mayor síntesis de carotenos que de clorofilas, con el propósito de proteger los tejidos contra el estrés (ÁVILA *et al.*, 2012).

Partiendo de lo anterior, en este estudio se cuantificó el contenido de pigmentos fotosintéticos, con el fin de inferir el efecto de un tratamiento con agua residual de mina en la actividad fotosintética de tres plantas acuáticas: *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. y *Salvinia auriculata* Aubl.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Para el estudio se colectaron las plantas acuáticas: *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. y *Salvinia auriculata* Aubl., del Jardín

Botánico de la Universidad de Caldas¹ a una altura de 2153 msnm, en las coordenadas 5°03'22"N 75°29'34"O.

Agua residual. Se obtuvo de una mina ubicada en el Municipio de Marmato, Caldas-Colombia, región caracterizada por la alta explotación minera, ubicado a una altura de 1310 msnm y distancia de 90,4 km de Manizales (capital del departamento de Caldas) en las coordenadas 5°28'31"N 75°35'57"O.

Tratamiento. El estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Estudios Ambientales de la Universidad de Caldas (Manizales-Colombia), las tres especies se sometieron a un período de aclimatación por siete días, posteriormente se expusieron a escala de laboratorio a un tratamiento con agua residual producto del lavado de arenas tratadas con cianuro proveniente de la región minera de Marmato-Caldas. El tratamiento se realizó por un período de seis días, sin renovación de plantas, se evaluaron cuatro tratamientos con tres réplicas, los tres primeros correspondieron a cada una de las plantas estudiadas: *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms, *Pistia stratiotes* L. y *Salvinia auriculata* Aubl.; el blanco correspondió a cada planta con agua sin tratamiento.

Determinación de componentes principales del agua residual. Se determinaron los componentes principales del agua tales como arsénico (As), cobre (Cu), hierro (Fe), plomo (Pb), zinc (Zn), sulfuro, cianuro (CN⁻), sólidos suspendidos totales (SST), utilizando distintos test Nanocolor® y un espectrofotómetro Nanocoloruv/vis, S/N: STR-6-8-52355, siguiendo los protocolos establecidos en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005).

Tabla 1. Métodos para la caracterización del agua residual.

| Componente | Método | Kit |
|-----------------------------------|---|---|
| Arsénico (As) | QUANTOFIX® Arsénico 10 REF 913 34 | Tiras de ensayo para determinaciones semi-cuantitativas |
| Cianuro (CN ⁻) | Test 1-30 01,15 Nanocolor® | Determinación fotométrica con ácido barbitúrico/piridina |
| Cobre (Cu) | Test 1-53 07,16 Nanocolor® | Determinación fotométrica con cuprizona [ácido oxálico bis (ciclohexilidenedhidrazida)] |
| Hierro (Fe) | Test 1-36 11,14 Nanocolor® | Determinación fotométrica con 1,10-fenantrolina |
| Plomo (Pb) | Test 1-10 06,08, Nanocolor® | Determinación fotométrica con ditizona |
| Sólidos suspendidos totales (SST) | Método ESTÁNDAR, sólidos totales secados a 103 – 105 °C | 2540-B APHA-AWWA-WPCF |
| Sulfuro | Test 1-88 03,14 Nanocolor® | Determinación fotométrica como azul de metileno |
| Zinc (Zn) | Test 1-95 03,14 Nanocolor® | Determinación fotométrica con zincon |

¹ Cultivo propio del Grupo de Investigación en Estudios Ambientales en Aguas y Suelo, GEAAS.

Determinación de cambios fotosintéticos. Para la cuantificación de pigmentos fotosintéticos, (clorofilas *a*, *b* y carotenoides), se siguió el método espectrofotométrico propuesto por HANSMANN, 1973 (en FLORES *et al.*, 2011), para lo cual se preparó un extracto de la muestra partiendo de 0,5 g de hojas de cada especie, maceradas y suspendidas en un volumen de 5 mL de acetona-agua al 90% (v/v) como disolvente extractor de los pigmentos. Se agitó y se dejó reposar en la oscuridad a 4°C durante 24 h. Después de este período se llevó a temperatura ambiente, se repuso el disolvente que se evaporó y se centrifugó (en centrífuga marca *Hettich 1205-1*, ref. *Rotofix 32*) a 2700 rpm durante 5 min. Se midió la densidad óptica por espectrofotometría a 480, 647 y 664 nm. Como blanco se utilizó acetona-agua (90% V/V). Las lecturas se realizaron desde el tiempo cero “0” hasta finalizar el tratamiento, cada setenta y dos horas (72h) en las especies *E. crassipes*, *P. Stratiotes* y *S. auriculata* para un total de tres lecturas a las 0h, 72h y 144 h de tratamiento.

Una vez medidas las absorbancias, se llevó a cabo el cálculo de las concentraciones clorofila y carotenoides totales, aplicando la ecuación propuesta por JEFFREY & HUMPHREY (1975), (En: BAO, 2015)

$$Ca (\mu\text{g/mL}) = 11,93 \times \text{D.O. (664)} - 1,93 \times \text{D.O. (647)}$$

$$Cb (\mu\text{g/mL}) = 20,36 \times \text{D.O. (647)} - 5,5 \times \text{D.O. (664)}$$

$$\text{Carotenoides totales } (\mu\text{g/mL}) = 4 \times \text{D.O (480)}$$

Ca, *Cb* y *carotenoides totales* corresponden a las concentraciones de clorofila *a*, *b* y *carotenoides* respectivamente, y D.O. es la densidad óptica medida.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación de componentes principales del agua residual. A partir de métodos fotométricos, se realizó la caracterización del agua residual. Los datos se compararon con el artículo 10 de la Resolución 0631 de 2015 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, República de Colombia (Por la cual se establecen los parámetros y valores máximos permisibles en los vertimientos puntuales a cuerpos de agua superficiales y a los sistemas de alcantarillados públicos y se dictan otras disposiciones); ver tabla 2.

Tabla 2.

Caracterización del agua residual producto del lavado de arenas tratadas con cianuro. Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible.

| Parámetro | Concentración mg/L | |
|----------------------------|--------------------|--------------------------------------|
| | Experimental | Resolución 0631 de 2015 ² |
| Arsénico (As) | 0,90 | 0,10 |
| Cobre (Cu) | 11,96 | 1,00 |
| Hierro (Fe) | 56,83 | 2,00 |
| Plomo (Pb) | 0,60 | 0,20 |
| Zinc (Zn) | 11,96 | 3,00 |
| Sulfuro | 2,20 | 1,00 |
| Cianuro (CN ⁻) | 175,00 | 1,00 |
| SST | 8400,00 | 0,50 |

De acuerdo con los componentes principales, se determinó que el agua residual producto del lavado de arenas tratadas con cianuro es una matriz compleja cuyo componente mayoritario es el cianuro (CN⁻) con un valor de 175,00 mg/L, que supera el valor de 1,00 mg/L establecido para los vertimientos puntuales de aguas residuales no domésticas (ARnD) a cuerpos de agua superficiales de actividades productivas de actividades de minería; así mismo se observa que los demás parámetros medidos tales como arsénico (As), cobre (Cu), hierro (Fe), plomo (Pb), zinc (Zn), sulfuro y sólidos suspendidos totales (SST) superan los valores establecidos por la norma, en ese sentido, se considera que la matriz compleja utilizada supone un estrés superior en las plantas.

Determinación de cambios fotosintéticos. Se obtuvo la densidad óptica de los extractos de las hojas de las tres especies a 480, 647 y 664 nm y posteriormente se hallaron las concentraciones de clorofila *a*, *b*, clorofila total, carotenos y las relaciones clorofila *a/b* y carotenos/clorofila total durante todo el tratamiento (desde 0 horas, 72 horas y 144 horas). La información se presenta en la tabla 3.

² Ministerio de Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible de Colombia; valores límites máximos permisibles en los vertimientos puntuales de aguas residuales no domésticas (ARnD) a cuerpos de agua superficiales de actividades de minería.

Tabla 3. Valores de pigmentos fotosintéticos y relación de clorofila a/b y carotenos/clorofila total, en las tres especies en todos los tiempos de tratamiento.

| Parámetro | Tto | <i>Eichhornia crassipes</i> | | | <i>Pistia Stratiotes</i> | | | <i>Salvinia auriculata</i> | | | |
|---------------------------|-----|-----------------------------|----------|-----------|--------------------------|----------|-----------|----------------------------|----------|-----------|-----------|
| | | 0 horas | 72 horas | 144 horas | 0 horas | 72 horas | 144 horas | 0 horas | 72 horas | 144 Horas | 216 Horas |
| Clorofila a (µg/L) | 1 | 7,929 | 26,219 | 25,842 | 15,242 | 26,64 | 24,938 | 20,11 | 20,872 | 23,008 | 13,268 |
| | 2 | 7,809 | 26,09 | 25,856 | 15,596 | 26,972 | 19,378 | 20,386 | 24,941 | 23,205 | 14,888 |
| | 3 | 8,088 | 26,01 | 25,744 | 15,277 | 22,709 | 10,311 | 20,769 | 22,558 | 23,282 | 18,663 |
| | B | 7,942 | 26,106 | 25,814 | 15,372 | 25,440 | 18,209 | 20,422 | 22,790 | 23,165 | 15,606 |
| Clorofila b (µg/L) | 1 | 3,607 | 36,569 | 37,774 | 27,806 | 16,476 | 13,133 | 8,583 | 9,205 | 10,869 | 7,22 |
| | 2 | 3,312 | 36,005 | 33,173 | 25,87 | 24,169 | 8,239 | 8,32 | 12,742 | 10,953 | 2,549 |
| | 3 | 4,098 | 34,796 | 34,12 | 26,465 | 21,598 | 4,242 | 7,89 | 10,317 | 8,814 | 9,406 |
| | B | 3,672 | 35,790 | 35,022 | 26,714 | 20,748 | 8,538 | 8,264 | 10,755 | 10,212 | 6,392 |
| Clorofila total (µg/L) | 1 | 11,536 | 62,787 | 63,616 | 43,047 | 43,116 | 38,071 | 28,693 | 30,077 | 33,876 | 20,488 |
| | 2 | 11,121 | 62,095 | 59,029 | 41,466 | 51,141 | 27,617 | 28,705 | 37,683 | 34,158 | 6,438 |
| | 3 | 12,186 | 60,806 | 59,864 | 41,742 | 44,307 | 14,552 | 28,659 | 32,875 | 32,097 | 28,069 |
| | B | 11,614 | 61,896 | 60,836 | 42,085 | 46,188 | 26,747 | 28,686 | 33,545 | 33,377 | 18,332 |
| Clorofila a/b | 1 | 2,198 | 0,418 | 0,684 | 0,548 | 1,617 | 1,899 | 2,343 | 2,267 | 2,117 | 1,838 |
| | 2 | 2,358 | 0,420 | 0,779 | 0,603 | 1,116 | 2,352 | 2,45 | 1,957 | 2,119 | 1,525 |
| | 3 | 1,974 | 0,428 | 0,754 | 0,577 | 1,051 | 2,431 | 2,632 | 2,187 | 2,641 | 1,984 |
| | B | 2,177 | 0,422 | 0,739 | 0,576 | 1,261 | 2,227 | 2,475 | 2,137 | 2,292 | 1,782 |
| Carotenos (µg/L) | 1 | 2,9 | 2,848 | 2,972 | 6,268 | 9,888 | 9,18 | 7,336 | 7,624 | 8,428 | 4,892 |
| | 2 | 10,408 | 10,344 | 10,276 | 6,328 | 10,26 | 7,068 | 7,424 | 9,168 | 8,5 | 1,448 |
| | 3 | 10,316 | 10,168 | 10,16 | 6,236 | 8,68 | 3,756 | 7,544 | 8,252 | 8,456 | 6,856 |
| | B | 7,875 | 7,787 | 7,803 | 6,277 | 9,609 | 6,668 | 7,435 | 8,348 | 8,461 | 4,399 |
| Carotenos/clorofila total | 1 | 0,251 | 0,045 | 0,047 | 0,146 | 0,229 | 0,241 | 0,255 | 0,253 | 0,248 | 0,238 |
| | 2 | 0,936 | 0,167 | 0,174 | 0,153 | 0,201 | 0,256 | 0,258 | 0,243 | 0,248 | 0,224 |
| | 3 | 0,847 | 0,167 | 0,17 | 0,149 | 0,196 | 0,258 | 0,263 | 0,251 | 0,263 | 0,244 |
| | B | 0,678 | 0,126 | 0,130 | 0,149 | 0,209 | 0,252 | 0,259 | 0,249 | 0,253 | 0,235 |

Clorofila a

En la figura 1 se presenta la variación de la clorofila a durante el tratamiento en las tres especies de estudio.

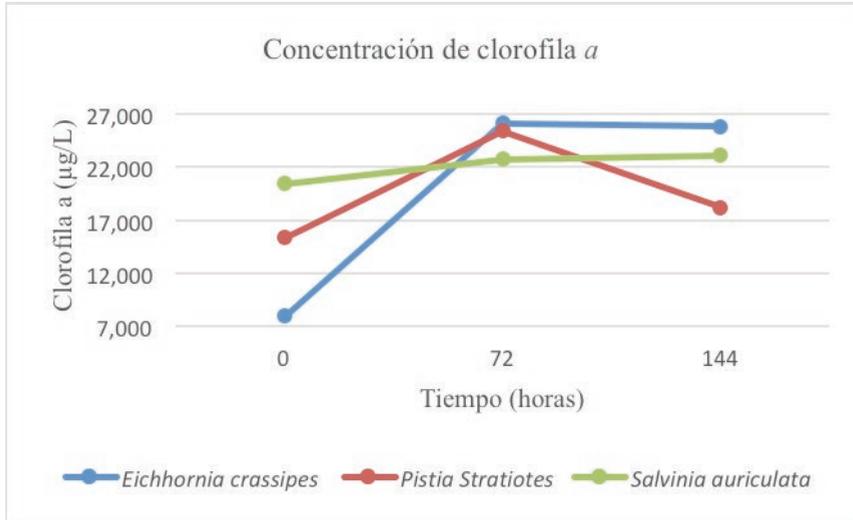


Figura 1. Concentración de clorofila a en *E. crassipes*, *P. stratiotes* y *S. auriculata* durante el tratamiento.

Se observó en la especie *E. crassipes* un aumento en la concentración de la clorofila a entre las 0 y las 72 h de tratamiento con valores promedio de 7,942 µg/L, 26,106 µg/L, respectivamente, mientras que a las 144 h se observó una leve disminución de la clorofila a con un valor de 25,814 µg/L para esta especie, lo cual permite inferir que hay un aumento de la clorofila a durante la exposición de las plantas al agua residual, garantizando su fotosíntesis. (Figura 1).

Para *P. stratiotes*, se observó un aumento en la concentración de la clorofila a entre las 0 y las 72h de exposición al agua residual, con una concentración de 15,372 µg/L y 25,440 µg/L, respectivamente, seguido de una disminución del pigmento a las 144 h con una concentración de 18,209 µg/L. Teniendo en cuenta lo anterior, se presume que el tratamiento afecta la producción de clorofila a generando un efecto negativo en la fotosíntesis en esta especie (Figura 1).

En *S. auriculata*, las concentraciones de clorofila a durante la exposición a la 0, 72 h y 144 h permanecieron prácticamente constante con valores entre 20,422 µg/L, 22,790 µg/L y 23,165 µg/L, respectivamente. Lo anterior permite presumir que la exposición de esta especie al tratamiento generó pocos cambios en la concentración de este pigmento en comparación con las otras especies estudiadas (Figura 1).

Las modificaciones en la concentración de clorofila *a* indican que *E. crassipes* y *P. stratiotes* presentaron mayor variación en la concentración de este pigmento durante el tratamiento como respuesta a las condiciones de estrés a las que fueron sometidas, en este caso, aguas residuales con alta carga contaminante.

Clorofila *b*

En la figura 2 se presenta la variación de la concentración de clorofila *b* en *E. crassipes*, *P. stratiotes* y *S. auriculata* durante el tratamiento.

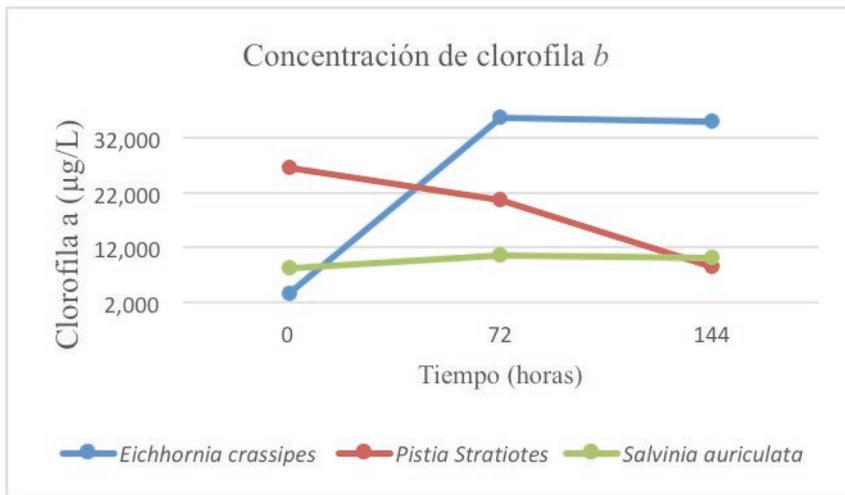


Figura 2. Concentración de clorofila *b* en *E. crassipes*, *P. stratiotes* y *S. auriculata* durante el tratamiento. Propiedad del autor.

En *E. crassipes*, la clorofila *b* incrementó de manera significativa entre las 0 y las 72 h de tratamiento con valores promedio de 3,672 µg/L, 35,790 µg/L, respectivamente y varió muy poco a las 144 h con un valor promedio de 35,022 µg/L, lo que indica que el tratamiento con agua residual tuvo un efecto positivo en la producción de clorofila *b* en esta especie (Figura 2).

En *P. stratiotes*, se determinó una disminución de la clorofila *b* durante el tratamiento: con valores entre 26,714 µg/L (0 h), 20,748 µg/L (72 h) y 8,538 µg/L (144 h), con lo anterior se infiere que el tratamiento tiene un efecto negativo en la concentración de clorofila *b* sobre *P. stratiotes* (Figura 2).

En *S. auriculata* se observó un leve aumento en la concentración de la clorofila *b* durante el tratamiento, con valores entre 8,264 µg/L (0 h), 10,755 µg/L (72 h) y 10,212 µg/L (144 h). Estos valores permiten inferir que el tratamiento causó muy poca variación en la clorofila *b* en comparación con las demás especies de estudio (Figura 2).

Las modificaciones en el contenido de clorofila *b* de *E. crassipes* y *P. stratiotes*, sugirieron que este efecto fue generado como respuesta a las condiciones de estrés a las que fueron sometidas.

Clorofila total

En la figura 3 se presenta la concentración de clorofila total en *E. crassipes*, *P. stratiotes* y *S. auriculata* durante el tratamiento

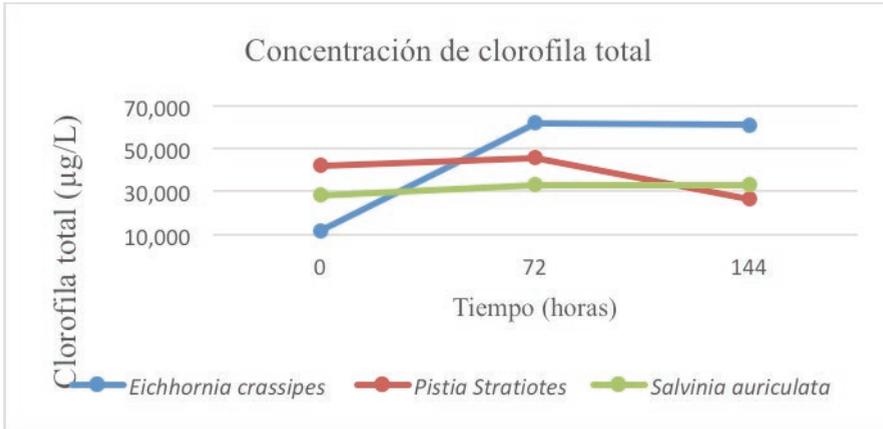


Figura 3. Concentración de clorofila total en *E. crassipes*, *P. stratiotes* y *S. auriculata* durante el tratamiento. Propiedad del autor.

Es importante señalar que como respuesta a los factores causantes de estrés que afectan la capacidad fotosintética, *E. crassipes* modificó la concentración de clorofila total representada en un aumento entre las 0 y las 144 h con valores entre 11,61 µg/L y 60,83 µg/L, disminuyó en *P. stratiotes* entre las 0 y las 144 h con valores entre 42,08 µg/L y 26,74 µg/L y para *S. auriculata* permaneció con valores relativamente constantes entre las 0 y las 144 h con valores entre 28,68 µg/L y 33,38 µg/L (Figura 3).

Teniendo en cuenta lo anterior, la concentración de clorofila en una planta es una de las variables que se deben tomar en consideración para determinar el estatus fisiológico de las plantas en un momento determinado (CALLEJAS *et al.*, 2013); en este sentido, las plantas pueden responder a los diferentes fenómenos tales como estrés hídrico y lumínico, exceso de salinidad, daños por ozono o por insectos; entre otros, modificando su concentración interna como respuesta a cualquier condición medioambiental a la que se someta. Así mismo, el contenido de clorofila en las hojas es un parámetro muy útil para evaluar el estado fisiológico de las plantas; el contenido de pigmentos fotosintéticos puede cambiar como respuesta a factores causantes de estrés, a la capacidad fotosintética o al estado de desarrollo de la planta (ÁVILA *et al.*, 2012).

Carotenos

En la figura 4 se presenta la variación de la concentración de carotenos en *E. crassipes*, *P. stratiotes* y *S. auriculata* durante el tratamiento.

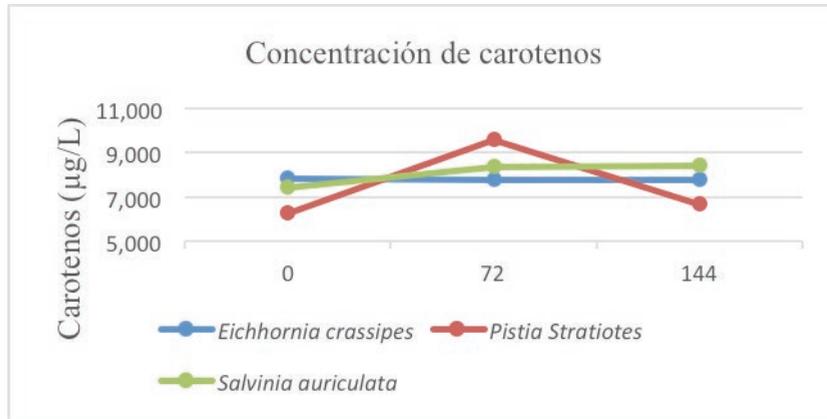


Figura 4. Concentración de carotenos en *E. crassipes*, *P. stratiotes* y *S. auriculata* durante el tratamiento. Propiedad del autor.

El comportamiento de los carotenos en *E. crassipes* fue estable desde las 0 hasta las 144 h de tratamiento con un valor promedio de 8,94 µg/L, en *P. stratiotes* se observó un aumento entre las 0 y las 72 h con valores de 6,28 µg/L y 9,91 µg/L de tratamiento seguido de una disminución en las 144 h con un valor de 6,67 µg/L y en *S. auriculata* se observó una concentración estable entre las 0 y las 144 h con valores de 28,68 µg/L y 33,38 µg/L, respectivamente (Figura 4).

Variación de la relación Clorofila a/b

Tradicionalmente se ha estudiado el contenido de clorofila *a* y *b* y la relación entre estos pigmentos como indicador de estrés en una planta; por ejemplo; con la disminución en la intensidad lumínica, considerada una de las principales condiciones adversas a las que se puede someter una planta, CAMBRÓN *et al.* (2011), afirman que: “se reduce la actividad fotosintética y la concentración de clorofila *b* tiende a ser mayor, afectando la relación de clorofilas *a/b*”, los autores también afirman que las menores cantidades de pigmentos de clorofila *a* y las mayores cantidades de clorofila *b* se observan en plantas rodeadas de individuos genéticamente similares (a lo que denominaron *condición de competencia III*), dado que representa un nivel de estrés mayor en comparación con las plantas que se encuentran rodeadas de individuos genéticamente diferentes (*condición de competencia II*)” (p. 259).

Por lo anterior, se puede considerar la relación de la clorofila *a/b* para el presente estudio como un indicador de estrés, en el caso concreto de *E. crassipes* (figura 5) se observó la disminución de la relación así desde las 0 hasta las 144 horas con valores entre 2,17 y 0,739, los resultados indican que la variación de la relación clorofila *a/b* ocurrió porque ambas pigmentos aumentaron su concentración, no obstante, la clorofila *b* lo hizo en mayor proporción, como posible respuesta al estrés.

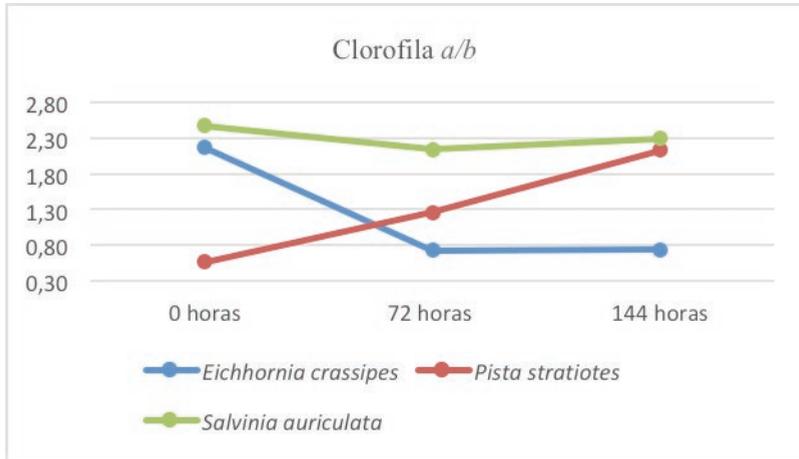


Figura 5. Variación de la relación clorofila *a/b* en las tres especies durante el tratamiento.

De acuerdo con CAMBRÓN *et al.* (2011), el tratamiento generó estrés en la planta que afectó en la producción de clorofila. Respecto a la especie *P. stratiotes*, (Figura 5) se observó un aumento en la relación clorofila *a/b* desde las 0 hasta las 144h, los valores fueron 0,57 y 2,14, respectivamente; esta variación se debió principalmente a la disminución de la clorofila *b*, y el aumento de la clorofila *a*. De acuerdo con CAMBRÓN *et al.* (2011), no existe estrés en la planta que cause afectación en la clorofila.

En *S. auriculata*, la relación entre clorofila *a/b* (Figura 5) varió poco durante entre las 0 y las 144 h, con valores de 2,47 y 2,29 a las 144 h; por lo que se puede inferir que el tratamiento no causa afectación en esta especie en cuanto a la concentración de clorofila.

Con lo anterior, se presume que el tratamiento con agua residual producto del lavado de arenas tratadas con cianuro, modifica las relaciones de clorofila *a/b* en las especies *E. crassipes* y *P. stratiotes*. De igual manera, se destaca que la especie menos afectada por las condiciones de estrés a las que fueron sometidas fue *S. auriculata*, lo que se traduce una alta tolerancia o adaptación de esta especie a los cambios ambientales.

Variación de carotenos/clorofila total

Los carotenoides tienen una función antioxidante y actúan además como pigmentos accesorios de la fotosíntesis cuando las plantas se someten a condiciones de estrés, ÁVILA *et al.* (2012), afirman que bajo condiciones de estrés se aumenta la relación carotenos/clorofila total como reflejo de una mayor síntesis de carotenos que de clorofilas y con el propósito de proteger los tejidos contra el estrés.

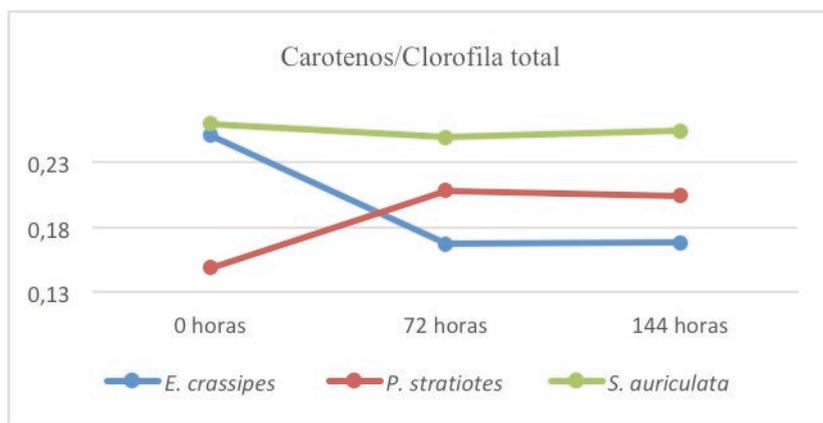


Figura 6. Variación de la relación Carotenos/clorofila total. Propiedad del autor

La relación carotenos/clorofila disminuyó durante el tratamiento (entre las 0 y las 144 horas) en *E. crassipes* (figura 6) con valores entre 0,250 y 0,168 respectivamente, esta variación ocurre porque hay aumento de las clorofilas totales, sin observarse aumento de la concentración de los carotenoides. De acuerdo con ÁVILA *et al.* (2012), el tratamiento no genera aumento en la síntesis de carotenos y la especie continúa su producción de clorofilas.

Para *P. stratiotes*, la relación carotenoides/clorofila total (Figura 6) aumentó entre las 0 y las 72 h con valores de 0,149 y 0,208, respectivamente, y disminuyó a las 144 h con un valor de 0,168; por lo que se deduce que al final de tratamiento la clorofila total aumentó en mayor proporción que los carotenoides. De acuerdo con ÁVILA *et al.* (2012), el tratamiento aumenta la síntesis de carotenos hasta las 72 h y a las 144 h la planta aumenta nuevamente su producción de clorofilas.

En *S. auriculata*, la relación de carotenoides/clorofila total (figura 6) varió poco durante el tratamiento (entre las 0 y las 144 h) con valores entre 0,26 y 0,25, respectivamente.

Con lo anterior, se presume que ocurre una variación en el nivel fotosintético de las plantas como respuesta a las condiciones de estrés a las que se sometieron (agua residual producto del lavado de arenas tratadas con cianuro, con valores que superan

los máximos permisibles en concentraciones de arsénico, cobre, hierro, plomo, cinc, sulfuro y cianuro, en ese sentido, en *Eichhornia crassipes* ocurrió una disminución de la relación clorofila *a*/clorofila *b* y en *Pistia stratiotes* aumentó de la relación carotenos/clorofila total, mientras que estas relaciones varían poco en *Salvinia auriculata* por lo que se presume que esta última fue la planta menos afectada por las condiciones de estrés, lo que se puede traducir en una alta tolerancia o adaptación de esta especie a los cambios ambientales.

Por lo anterior, el grupo de investigación continúa con el estudio en las plantas acuáticas utilizadas en los procesos de biorremediación donde se destaca que a pesar de que estos tratamientos afectan el nivel fotosintético de las plantas, éstas contribuyen a la conversión metabólica de contaminantes de origen minero especialmente cianuro.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Caldas y la Vicerrectoría de Investigaciones y Posgrados por el apoyo económico y logístico para realizar esta investigación. A los integrantes del Grupo de Investigación en Estudios Ambientales en Agua y Suelo GEAAS por su apoyo.

REFERENCIAS

- APHA, 2005.- *Standard methods for the examination of water and waste water*, 21st ed. American Public Health Association, Washington, DC
- ASHRAF, M., & HARRIS, P., 2013.- Photosynthesis under stressful environments: An overview. *Photosynthetica*, 51 (2): 163-190.
- ÁVILA, O., CASIERRA, F., RIASCOS, D., 2012.- Contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas de caléndula bajo sol y sombra. *Temas agrarios*, 17: (1) 60 - 71.
- BAO, A., 2015.- Toxicidad ejercida por el triclosán sobre la microalga dulceacuícola *Chlamydomonas moewusii* Gerloff. Tesis, Universidad de La Coruña, Facultad de Ciencias, La Coruña.
- BASANT, A., MALIK, A., SINGH, K., SINHA, S., 2009.- Multivariate modeling of chromium-induced oxidative stress and biochemical changes in plants of *Pistia stratiotes* L. *Ecotoxicology*, 5(18): 555-566.
- CALLEJAS, K., CONTRERAS, A., MORALES, L., & PEPPI, C., 2013.- Evaluación de un método no destructivo para estimar las concentraciones de clorofila en hojas de variedades de uva de mesa. *Idesia*, 4(31): 1-25.
- CAMBRÓN, V., HERRERÍAS, Y., ESPAÑA, M., SÁENZ, C., SÁNCHEZ, N., & VARGAS, J., 2011.- Producción de clorofila en *Pinus pseudostrobus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 17 (2): 253-260.
- CRUZ, A., FORTES, D., HERRERA, R., GARCÍA, M. GONZÁLEZ, S. & ROMERO, A., 2009.- Comportamiento de los pigmentos fotosintéticos, según la edad de rebrote después del pastoreo de *Pennisetum purpureum* vc. Cuba CT-115 en la estación poco lluviosa. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 43 (2): 183-186.
- DHIR, B., & SRIVASTAVA, S., 2013. - Heavy Metal Tolerance in Metal Hyperaccumulator Plant, *Salvinia natans*. *S. Bull Environ Contam Toxicol*, 90: 720.
- DHIR, B., KUMAR, R., MEHTA, D., SARADHI, P., SHARMA, A., & SHARMILLA, P., 2011. - Heavy metal induced physiological alterations in *Salvinia natans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 6 (74): 1678-1684.
- EBEL, M., EVANGELOU, M., & SHAEFFER, A., 2006. - Cyanide phytoremediation by water hyacinths (*Eichhorniacrassipes*). *Chemosphere*, (5)66: 816-823.
- FARNESE, J., GUSMAN, G., LEO, G., & OLIVEIRA, J., 2013.- Evaluation of the potential of *Pistia stratiotes* L. (water lettuce) for bioindication and phytoremediation of aquatic environments contaminated with arsenic. *Braz J Biol*, 3(74): 1201-1209.
- FASIDI, I., & ODJEGBA, J., 2004. -Accumulation of Trace Elements by *Pistia stratiotes*: Implications for phytoremediation. *Ecotoxicology*, 7(13): 637-646.
- FLORES, E., & JARAMILLO, M., 2012.- Fitorremediación mediante el uso de dos especies vegetales *Lemnaminor* (Lenteja de agua), y *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua) en aguas residuales producto de la actividad minera: Tesis, Universidad Politécnica Salesiana de Ecuador Cuenca-Ecuador:
- FLORES, M., GUERRERO, J., & VERGARA, F., 2011.- Efecto del tiempo de almacenamiento y tipo de procesamiento en los antioxidantes de nopal. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 5(2): 84-96.

- GOEL, N., HARRON, J., HU, B., MILLER, J., MOHAMMED, G., NOLAND, T., SAMPSON, P., & ZARCO, P., 2004.- Needle chlorophyll content estimation through modelling version using hyperspectral data from boreal conifer forest canopies. *Remote Sensing of Environment*, 89(2): 189-199.
- GÓMEZ, J., MONROY, O., OLGUÍN, E., SÁNCHEZ, G., 2008. Assessment of the hyperaccumulating lead capacity of *Salvinia minima* using bioadsorption and intracellular accumulation factors. *Water, Air and Soil Pollution*, 1(194): 77-90.
- GONZÁLEZ, A., 2009.- Aplicación del medidor portátil de clorofila en programas de mejora de trigo y cebada. *Agroecología*, 4: 111-116.
- GONZÁLEZ, J., HILAL, M., PAGANO, E., PRADO, C., PRADO, F., & RODRÍGUEZ, L., 2010.- Uptake of chromium by *Salvinia minima*: Effect on plant growth, leaf respiration and carbohydrate metabolism. *Journal of Hazardous Materials*, 1-3(177): 546-553.
- HANOVER, J., & TOWNSEND, A., 1972.- Altitudinal variation in photosynthesis, growth, and monoterpene composition of western white pine (*Pinus monticola* Dougl.) seedlings. *Silvae Genetica*, 21(3-4): 133-139.
- KUMAR, N., RAI, N., SINGH, R., & TEWARI, A., 2008.- Amelioration of municipal sludge by *Pistia stratiotes* L.: Role of antioxidant enzymes in detoxification of metals. *Bioresource Technology*, 18(99): 8715-8721.
- LARA, J., & MARTELO, J., 2012.- Macrófitas flotantes en el tratamiento de aguas residuales: una revisión del estado del arte. *Ingeniería y Ciencia*, 8(15): 221-243.
- MAITI, D., & PRASAD, B., 2016.- Comparative study of metal uptake by *Eichhornia crassipes* growing in ponds from mining and non-mining areas: a field study. *Biorem. J*, 2(20): 144-152.
- RASHED, M., & SOLTAN, M., 2003.- Laboratory study on the survival of water hyacinth under several conditions of heavy metal concentrations. *Advances in Environmental Research*, (2) 7: 321-334.
- SERRANO, M., 2006.- *Fitorremediación: una alternativa para la recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos*. Universidad Industrial de Santander. Escuela de Química.