

Tolerancia de las plantas acuáticas *Pistia stratiotes* y *Eichhornia crassipes* al cromo hexavalente en medio acuoso

Tolerance of the aquatic plants *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes* at hexavalent chromium in aqueous media

Tolerância de plantas aquáticas *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes* ao cromo hexavalente em meio aquoso

Charity E. Andrade R.¹, Ana B. Cáceres¹, Alexandra L. Vera B.² y Ever D. Morales A.³

¹Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Venezuela. Correo electrónico: charityandrade@hotmail.com, anacaceres7@gmail.com. ²Departamento de Química, Facultad de agronomía, LUZ, Venezuela. Correo electrónico: avera@fa.luz.edu.ve. ³Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Guayaquil, Ecuador. Correo electrónico: ever.moralesa@ug.edu.ec

Resumen

En la fitorremediación de medios contaminados con metales pesados, la tolerancia de las especies vegetales al metal juega un importante papel. En este trabajo, se evaluó el efecto del cromo hexavalente [Cr(VI)] en el desarrollo de *Pistia stratiotes* y *Eichhornia crassipes*, mediante el monitoreo de microcosmos constituidos por envases cilíndricos de vidrio conteniendo 0,5 L de medio enriquecido con 0,5 mL.L⁻¹ de fertilizante comercial Cathefoliar plus N:P:K (6:1:21) contaminado con Cr(VI): 5, 10, 25 y 50 mg.L⁻¹, frente a un control sin metal y una planta por envase, mantenidos con iluminación artificial (106 ± 23 μmol.quanto.m⁻².s⁻¹), fotoperiodo 12 h luz y una temperatura de 28 ± 2 °C. El desarrollo de las plantas se siguió mediante su masa seca, masa húmeda, contenido de pigmentos (clorofila *a* y *b*, carotenoides) y proteínas. Las plantas lograron un crecimiento satisfactorio bajo concentraciones del metal menores o iguales a 10 mg Cr(VI).L⁻¹, para *P. stratiotes*, y hasta 25 mg Cr(VI).L⁻¹ para

Recibido el 02-08-2019 • Aceptado el 17-12-2019.

*Autor de correspondencia. Correo electrónico: charityandrade@hotmail.com

E. crassipes, sin mostrar disminuciones significativas en la masa seca, fresca y pigmentos. El contenido de proteínas no fue afectado, mostrando una estimulación para ambas plantas a concentraciones de 50 mg Cr.L⁻¹. El efecto tóxico en las plantas se evidenció a través de daños morfofisiológicos como clorosis, marchitez o plasmólisis, quemaduras del ápice, reducción y deformación del área foliar, necrosis y hasta la muerte de la planta a altas concentraciones del metal. *P. stratiotes* y *E. crassipes* demostraron su tolerancia a altas concentraciones de Cr(VI), por lo que se hace factible su uso potencial en el tratamiento de aguas contaminadas con este metal.

Palabras clave: tolerancia, cromo hexavalente, *E. crassipes*, *P. stratiotes*.

Abstract

In the phytoremediation of media contaminated with heavy metals, the tolerance of plant species to metal plays an important role. In this research, the effect of hexavalent chrome [Cr(VI)] on the development of *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes* was evaluated through the monitoring of microcosms constituted by cylindrical glass containers containing 0.5 L of media enriched with 0.5 mL.L⁻¹ commercial fertilizer Cathefoliar plus N:P:K (6:1:21) contaminated with Cr (VI): 5, 10, 25 and 50 mg.L⁻¹, compared to a control without metal and one plant per container, maintained with artificial lighting ($106 \pm 23 \mu\text{mol}\cdot\text{quinto}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), photoperiod 12 h light and a temperature of 28 ± 2 °C. The development of the plants was followed by their dry mass, wet mass, content of pigments (chlorophyll *a* and *b*, carotenoids) and proteins. The plants achieved a satisfactory growth under metal concentrations less or equal to 10 mg Cr (VI).L⁻¹, for *P. stratiotes*, and up to 25 mg Cr (VI) for *E. crassipes*, without showing significant decreases in fresh, dry mass and pigments. The protein content was not affected, showing stimulation for both plants at concentrations of 50 mg Cr.L⁻¹. The toxic effect on plants is evidenced by morphophysiological damages such as chlorosis, wilt or plasmolysis, apex burns, reduction and deformation of leaf area, necrosis and even death of the plant at high metal concentrations. *P. stratiotes* and *E. crassipes* demonstrated their tolerance to high concentrations of Cr (VI), making their potential use feasible in the treatment of water contaminated with this metal.

Key words: Tolerance, hexavalent chromium, *E. crassipes*, *P. stratiotes*.

Resumo

Na fitorremediação de meios contaminados com metais pesados, a tolerância das espécies vegetais ao metal desempenha um papel importante. Neste trabalho, foi avaliado o efeito do cromo hexavalente [Cr (VI)] no desenvolvimento de *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes*, monitorando microcosmos constituídos por recipientes de vidro cilíndricos contendo 0,5 L de meio enriquecido com 0,5 mL.L⁻¹ Cathefoliar plus N:P:K (6:1:21) fertilizante comercial contaminado com Cr (VI): 5,

10, 25 e 50 mg.L⁻¹, comparado a um controle sem metal e uma planta por recipiente, mantido com iluminação artificial ($106 \pm 23 \mu\text{mol}\cdot\text{quanto}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), fotoperíodo 12 h luz e temperatura de $28 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. O desenvolvimento das plantas foi acompanhado por massa seca, massa úmida, teor de pigmentos (clorofila aeb, carotenóides) e proteínas. As plantas obtiveram crescimento satisfatório em concentrações metálicas menores ou iguais a 10 mg.L⁻¹ Cr (VI), para *P. stratiotes*, e até 25 mg.L⁻¹ Cr (VI) para *E. crassipes*, sem mostrar reduções significativas na massa seca, frescos e pigmentos. O conteúdo de proteínas não foi afetado, mostrando estímulo para ambas as plantas nas concentrações de 50 mg.L⁻¹ Cr (VI). O efeito tóxico nas plantas foi evidenciado por danos morfofisiológicos como clorose, murcha ou plasmólise, queimaduras de ápice, redução e deformação da área foliar, necrose e até a morte da planta em altas concentrações do metal. *P. stratiotes* e *E. crassipes* demonstraram sua tolerância a altas concentrações de Cr (VI), viabilizando seu uso potencial no tratamento de águas contaminadas por esse metal.

Palavras-chave: tolerância, cromo hexavalente, *E. crassipes*, *P. Stratiotes*

Introducción

El uso de plantas para la remoción de contaminantes de aguas, conocida como fitorremediación, tiene la ventaja de requerir menor cantidad de recursos económicos y tecnológicos que los tratamientos convencionales; por lo cual podrían ser utilizadas inclusive en países en vías de desarrollo (Paris *et al.*, 2005). Aunque para muchas plantas, los metales pesados pueden ser tóxicos; algunas de ellas pueden involucrar mecanismos que permiten su adaptación para la tolerancia de altas concentraciones de metales que podrían ser tóxicos para otros organismos (Dipu *et al.*, 2010). Por esta razón, el factor más importante en la aplicación de la fitorremediación es la selección de una planta apropiada, debido a que la eficiencia de remoción de contaminantes dependerá principalmente de la especie de planta utilizada, su estado de crecimiento, su estacionalidad y el tipo de metal a remover, pudiendo variar la captación

Introduction

The use of plants for removal water pollutants, is known as phytoremediation, it has the advantage to require less amount of economic and technological resources than the conventional treatments; whence they could be used even in developing countries (Paris *et al.*, 2005). Although for many plants, heavy metals can be toxic; some of them can involve mechanisms that allow their adaptation for tolerance of high metal concentrations that could be toxic for other organisms (Dipu *et al.*, 2010). For this reason, the most important factor in the application of phytoremediation is the selection of one appropriate plant, due to the pollutant removal efficiency, will depend mainly on the specie used, its development state, its seasonality and the type of metal to remove, being able to vary the catchment and accumulation of pollutants from a plant to another one, and also from

y acumulación de contaminantes de una planta a otra y también de especie a especie, dentro de un género (Gupta *et al.*, 2012). En este sentido, según Núñez *et al.* (2004) las plantas seleccionadas deben cumplir con ciertos criterios tales como: ser tolerantes a altas concentraciones de metales, ser acumuladoras de metales, tener una rápida tasa de crecimiento y alta productividad, ser especies locales, y fácilmente cosechables.

La presente investigación estuvo enfocada en la evaluación del efecto del cromo hexavalente Cr (VI), en el desarrollo de *Pistia stratiotes* y *Eichhornia crassipes*, debido a que es el estado de oxidación del metal que genera mayor preocupación ambiental por su efecto tóxico agudo. Por lo que la determinación de las concentraciones tolerables de Cr (VI) en estas plantas, permitirá dilucidar sobre la posibilidad de su uso en el tratamiento de efluentes contaminados con este metal.

Materiales y métodos

Plantas acuáticas: Se evaluaron dos tipos de plantas acuáticas flotantes: *Pistia stratiotes* L. (familia Araceae), proveniente de lagunas de agua dulce utilizadas para la cría de peces del Jardín Botánico de Maracaibo, estado Zulia y *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. (familia Pontederiaceae), colectada del drenaje pluvial de la Vereda del Lago de Maracaibo, Maracaibo, estado Zulia. Se seleccionaron plantas maduras, con semejanza en tamaño y masa para la misma especie.

specie to specie, within a genus (Gupta *et al.*, 2012). In this sense according to Núñez *et al.* (2004) the selected plants, must meet certain criterias as: Be tolerants to high concentrations of metals, be metal accumulators, have a fast growth rate and high productivity, be local species and easily harvestable.

The present research was focused in the evaluation of the hexavalent chromium effect Cr (VI), on the development of *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes*, due to that is the oxidation state of metal that generates the greater environmental concern for its acute toxic effect. So the determination of the tolerable concentrations of Cr (VI) in these plants, will allow clarify the possibility of its use in the treatment of effluents contaminated with this metal.

Materials and methods

Aquatic plants: two types of floating aquatic plants: *Pistia stratiotes* L. (Araceae family), coming from freshwater lagoons used for fish farming of Jardín Botánico de Maracaibo, Zulia state and *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. (Pontederiaceae family), collected from storm drainage of la Vereda del Lago de Maracaibo, Zulia state. Mature plants were selected, with similarity in size and mass for the same specie.

Fertilizer: the nutrients required by the plant were supplied through the commercial fertilizer (Cathefoliar plus) at a concentration of 0.5 mL.L⁻¹, equivalent to a concentration of nitrogen as NO₃⁻ de 15.0 mg.L⁻¹, and of phosphorus as

Fertilizante: Los nutrientes requeridos por la planta se suministraron a través del fertilizante comercial (Cathefoliar plus) a una concentración de 0,5 mL.L⁻¹, equivalente a una concentración de nitrógeno como NO₃⁻ de 15,0 mg.L⁻¹, y de fósforo como P₂O₅ de 5 mg.L⁻¹, con aportes de potasio soluble (K₂O) 10,0% y micronutriente: como magnesio, cinc, manganeso, hierro, cobre, cobalto, boro y molibdeno quelados con EDTA.

Concentración del metal: se utilizó cromo hexavalente (Cr VI), adicionado a partir de una solución de 1000 mg.L⁻¹ preparada con dicromato de potasio sólido (K₂Cr₂O₇, 99,8% pureza, Riedel de Haën), en agua desionizada.

Diseño experimental: se construyeron microcosmos en los que se emuló el sistema natural de la planta acuática, conformando un diseño completamente al azar. Los microcosmos consistieron de envases cilíndricos de vidrio de 1 L de capacidad, en los cuales se hizo crecer una planta en 500 mL del medio acuoso, manteniéndose con iluminación artificial (106 ± 23 μmol.quanta.m⁻².s⁻¹), fotoperiodo de 12 de luz, y una temperatura de 28 ± 2 °C. Se evaluaron cinco tratamientos por cuadruplicado correspondientes a las concentraciones de Cr (VI): 5, 10, 25 y 50 mg.L⁻¹, frente a un control positivo sin adición del metal, todos los tratamientos fueron enriquecidos con el fertilizante comercial a una concentración de 0,5 mL.L⁻¹ de fertilizante.

Monitoreo de microcosmos: el crecimiento de las plantas se siguió

P₂O₅ of 5 mg.L⁻¹, with contributions of soluble potassium (K₂O) 10.0 % and micronutrients: magnesium, zinc, manganese, iron, copper, cobalt, boron and molybdenum chelating with EDTA.

Concentration of metal: hexavalent chromium was used (Cr VI), adding from a solution of 1000 mg L⁻¹ prepared with solid potassium dichromate (K₂Cr₂O₇, 99.8 % purity, Riedel de Haën), in deionized water.

Experimental design: microcosms were built where was emulated the natural system of the aquatic plant, forming a completely random design. The microcosms consisted of cylindrical glass containers of 1 L of capacity, in which a plant was grown in 500 mL of aqueous media, keeping with artificial lightening (106 ± 23 μmol.quanta.m⁻².s⁻¹), photoperiod of 12 of light, and a temperature of 28 ± 2 °C. Five treatments were evaluated by quadruplicate corresponding to concentrations of Cr(VI): 5, 10, 25 and 50 mg.L⁻¹, compared to a positive control without metal addition, all the treatments were enriched with commercial fertilizer at a concentration of 0.5 mL fertilizer.L⁻¹.

Microcosms monitoring: the growth of the plants was followed during the period of 10 days. For the determination of the dry mass, the plants extracted from the media culture were washed with distilled and deionized water; they were dried in an oven at an approximate temperature of 60 - 70 °C until obtain constant mass. The wet mass of the washed plants was determined after removing excess water with absorbent

durante un período de 10 días. Para la determinación de la masa seca, las plantas extraídas del medio de cultivo se lavaron con agua destilada y desionizada, se secaron en horno a una temperatura aproximada de 60 - 70 °C hasta obtener masa constante. La masa húmeda de las plantas lavadas se determinó luego de haber eliminado el exceso de agua con papel absorbente, estos análisis se realizaron al inicio y al final del bioensayo.

La determinación de pigmentos (clorofila *a* y *b*; carotenoides totales) se realizó diariamente, tomando muestras de aproximadamente 0,01 g de la misma hoja de las plantas y utilizando como agente extractante una mezcla de acetona:metanol (2:1 % v/v), el sobrenadante se midió luego de 24 h de refrigeración a las longitudes de onda de 647 y 664 nm para la cuantificación de clorofila *a* y *b*; y a 480 nm para la determinación de carotenoides, usando un espectrofotómetro molecular en la región del ultravioleta-visible (SHIMADSU 1800). Se calculó el contenido de la clorofila *a* y *b* a través de las ecuaciones propuestas por Jeffrey y Humphrey (1975) y los carotenoides totales según Strickland y Parson (1972).

El contenido de proteínas se estimó en muestras de hojas durante la fase estacionaria de crecimiento, previa extracción con ácido clorhídrico 1N. Para ello se utilizó el método Bradford (Berges y col. 1993; Pedrol y Ramos, 2001), basado en el empleo de un colorante hidrofóbico (Reactivo Bradford, SIGMA ALDRICH), cuyas disoluciones acuosas en presencia de

paper, these analyzes were realized at the beginning and at the end of the bioassay.

The determination of pigments (chlorophyll *a* and *b*; total carotenoids) was realized daily, taking samples of 0.01 g approximately from the same leaf of the plants and using as extracting agent a mixture of acetone:methanol (2:1 % v/v), the supernatant was measured after 24 h of refrigeration at wavelengths of 647 and 664 nm for the quantification of chlorophyll *a* and *b*; and at 480 nm for the determination of carotenoids, using a molecular spectrophotometer in the visible ultraviolet region (SHIMADSU 1800). The content of chlorophyll *a* and *b* was calculated through the proposed equations by Jeffrey and Humphrey (1975) and the total carotenoids according to Strickland and Parson (1972).

The protein content was estimated in leaf samples during the stationary phase of growth, after extraction with hydrochloric acid 1 N. For that the method Bradford (Berges and col. 1993; Pedrol and Ramos, 2001) was used, based on the use of a hydrophobic dye (Reactive Bradford, SIGMA ALDRICH), which aqueous dissolutions in presence of phosphoric acid have a brown color and that being in the hydrophobic environment of the interior of a protein, produce an intense color that is measure at a wavelength of 595 nm.

Statistic analysis: To determine the effect of the hexavalent chromium on the plant development in terms of their pigment content, proteins and dry mass, a "t" test was realized for

ácido fosfórico tienen un color pardo y que, al encontrarse en el entorno hidrofóbico del interior de una proteína, origina un color azul intenso que se mide a una longitud de onda de 595 nm.

Análisis estadístico: Para determinar el efecto del cromo sobre el desarrollo de las plantas en cuanto a su contenido de pigmentos, proteínas y masa seca, se realizó una Prueba “t” para muestras relacionadas, con el propósito de establecer diferencias significativas entre los valores iniciales y finales de las variables respuesta, empleando el programa Minitab 17.0.

Resultados y discusión

Influencia del cromo hexavalente en el desarrollo de la biomasa de las plantas acuáticas.

La planta acuática *Pistia stratiotes* mantuvo la biomasa seca inicial. Es decir, las biomasas posteriores al tratamiento permanecieron sin diferencias significativas ($p > 0,05$) en todos los tratamientos (figura 1). Por su parte, *Eichhornia crassipes*, presentó una disminución significativa ($p < 0,05$) con respecto a la biomasa seca inicial (21,14 %), cuando la planta se expuso a la concentración de 50 mg.L⁻¹ del metal.

Por otra parte, la degradación en la planta por el consecuente efecto tóxico del metal a concentraciones de 50 mg.L⁻¹, ocasionó una pérdida en el tejido vegetal de *E. crassipes* que pudo determinarse a los 10 días de exposición. Resultados similares obtuvieron Prado *et al.* (2016), en

the related samples, with the purpose to establish significant differences between the initial and final values of the response variables, applying the Minitab 17.0 program.

Results and discussion

Influence of hexavalent chromium on the development of the biomass of aquatic plants.

The aquatic plant *Pistia stratiotes* maintained the initial dry biomass. That is to say, the biomasses after treatment remained without significant differences ($p > 0.05$) in all the treatments (figure 1). By its part, *Eichhornia crassipes*, presented a significant decreased ($p < 0.05$) regarding to the initial dry biomass (21.14 %), when the plant was exposed to the concentration of 50 mg.L⁻¹ of the metal.

On the other hand, the degradation in the plant by the consequent toxic effect of the metal at concentrations of 50 mg.L⁻¹, produced a loss in the vegetable tissue of *E. crassipes* that could be determined at 10 days of exposition. Similar results Prado *et al.* (2016) obtained, in the evaluation of two aquatic plant *Salvinia* species exposed at concentrations of Cr(VI) of 5 and 20 mg.L⁻¹, they checked that *Salvinia minima* showed a significant reduction ($p < 0.05$) of the biomass after seven (7) days of exposure at a concentration of 20 mg Cr.L⁻¹. While the biomass of *Salvinia rotundifolia*, was not affected. On the other hand, there was not significant changes in the biomass of both species at a concentration of 5 mg Cr.L⁻¹, as

la evaluación de dos especies de la planta acuática *Salvinia* expuesta a concentraciones de Cr (VI) de 5 y 20 mg.L⁻¹, comprobaron que *Salvinia minima* mostró una reducción significativa ($p < 0,05$) de la biomasa luego de siete (7) días de exposición a una concentración de 20 mg Cr.L⁻¹. Mientras que la biomasa de *Salvinia rotundifolia*, no fue afectada. Por otra parte, a la concentración de 5 mg Cr.L⁻¹ no hubo cambios significantes en la biomasa de ambas especies, como se demostró para *Pistia stratiotes* y *Eichhornia crassipes* en esta investigación.

was shown for *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes* in this research.

Even though *P. stratiotes* did not present significant changes in the dry biomass, is to highlight the occurrence of significant changes ($p < 0,05$) according to the wet biomass (figure 2); states of wilting and plasmolysis are visibly appreciated, in treatments subjected at concentrations of 25 and 50 mg.L⁻¹ in the first days of exposure (4 to 6 days), which reported reductions of 19.3 and 29.7 %; respectively, at the end of the study period. In treatments with *E. crassipes*, was reported a reduction of 11.6 % in the wet biomass,

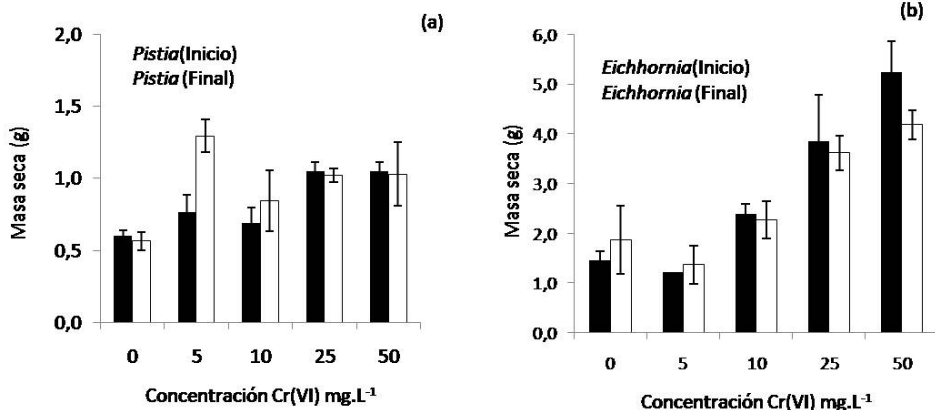


Figura 1. Efecto del Cr (VI) en el desarrollo de (a) *Pistia stratiotes* y (b) *Eichhornia crassipes* en función de la biomasa seca. Barra negra: inicio, barra vacía: final.

Figure 1. Effect of Cr (VI) on the development of (a) *Pistia stratiotes* and (b) *Eichhornia crassipes* depending on the dry biomass. Black bar: start, empty bar: end.

A pesar de que *P. stratiotes* no presentó cambios significativos en la biomasa seca, es de resaltar la ocurrencia de cambios significativos ($p < 0,05$) en cuanto a la biomasa húmeda (figura 2); apreciándose visiblemente

in the treatments exposed to 50 mg.L⁻¹ of Cr (VI).

The stress situation, as the exposure of plants to heavy metals, can produce changes in the morphology, as the wilting or plasmolysis, presented

estados de marchitez y plasmólisis, en los tratamientos sometidos a concentraciones de 25 y 50 mg.L⁻¹ en los primeros días de exposición (4 a 6 días), los cuales reportaron reducciones del 19,3 y 29,7 %; respectivamente, al final del periodo de estudio. En los tratamientos con *E. crassipes* se reportó una reducción del 11,6 % en la biomasa húmeda, en los tratamientos expuestos a 50 mg.L⁻¹ de Cr (VI).

in the plants studied, in which the cells lose water and they contract decreasing the leaf surface exposed to the solar energy, producing the closure of stomata that also decreases the perspiration. This produces a diminution of the CO₂ entrance in the cells and a low efficiency in the use of light, inducing a mechanism of inactivation of the photosynthetic system (Melgarejo, 2010).

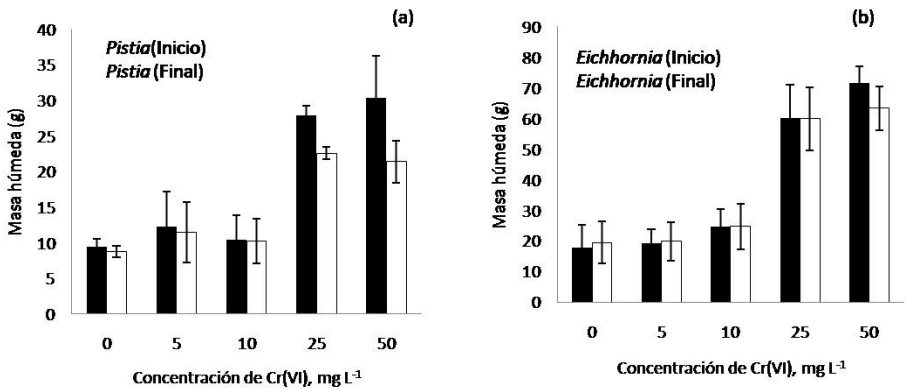


Figura 2. Efecto del Cr (VI) en el desarrollo de (a) *Pistia stratiotes* y (b) *Eichhornia crassipes* en función de la biomasa húmeda. Barra negra: inicio, barra vacía: final

Figure 2. Effect of Cr (VI) on the development of (a) *Pistia stratiotes* and (b) *Eichhornia crassipes* depending on the wet biomass. Black bar: start, empty bar: end.

La situación de estrés, como la exposición de las plantas a metales pesados, puede ocasionar los cambios en la morfología, como la marchitez o plasmólisis, presentados en las plantas estudiadas, en la que las células pierden agua y se contraen, disminuyendo la superficie de la hoja expuesta a la energía solar, provocando el cierre de los estomas, que disminuye también la transpiración. Esto provoca

The loss of moisture has been reported in alfalfa plants watered with solutions of Cr (VI), finding that according to the concentration of chromium in the watering solution increases, the length of the area part decreases. At slightly higher concentrations of 5 mg Cr (VI).L⁻¹. In this sense, Alférez *et al.* (2009), reported the occurrence of a water imbalance that produces that the aerial

una disminución de la entrada de CO₂ en las células y una baja eficiencia en el uso de la luz, induciéndose un mecanismo de inactivación del sistema fotosintético (Melgarejo, 2010).

La pérdida de humedad también se ha reportado en plantas de alfalfa regadas con soluciones de Cr (VI), encontrándose que conforme aumenta la concentración de cromo en la solución de riego, la longitud de la parte aérea disminuye. A concentraciones ligeramente superiores de 5 mg Cr (VI).L⁻¹. En este sentido, Alférez *et al.* (2009), reportaron la ocurrencia de un desbalance hídrico que hace que la parte aérea de la planta tenga menor humedad, además de presentar una disminución en la concentración de clorofila.

Por su parte, la similitud estructural del cromo con otros iones esenciales puede interferir con la nutrición mineral de la planta, asociando la presencia de este metal a una disminución en la absorción de nutrientes; lo que también conduce al crecimiento lento de las plantas, debido a que afecta severamente varios procesos fisiológicos, morfológicos y bioquímicos (Shahid *et al.*, 2017; Jobby, 2018).

Influencia del cromo hexavalente en el contenido de pigmentos de las plantas acuáticas evaluadas

En cuanto al contenido de pigmentos, *Pistia stratiotes* se mostró afectada de manera significativa con concentraciones de Cr (VI) mayores o iguales a 25 mg.L⁻¹, lo que se evidenció por la disminución en el contenido de clorofila total luego de su exposición al metal (figura 3).

part of the plant has less moisture, in addition to presenting a decrease in the chlorophyll concentration.

By its part, the structural similarity of chromium with other essential ions can interfere with the mineral nutrition of the plant, associating the presence of this metal to a decreasing in the absorption of nutrients; that also conduces to a slow growth of plants, due to it severely affects various physiological, morphological and biochemical processes (Shahid *et al.*, 2017; Jobby, 2018).

Influence of the hexavalent chromium on the pigments content of the aquatic plants evaluated.

According to the content of pigments, *Pistia stratiotes* was significantly affected with concentrations of Cr (VI) higher or equal to 25 mg.L⁻¹, which was evidenced by the decrease in the total chlorophyll content after its exposure to the metal (figure 3).

The control treatment maintained its content of total chlorophyll in 1.752 ± 0.101 mg.g⁻¹. However, the concentration of chlorophyll in treatments exposed at concentrations of 25 and 50 mg.L⁻¹ of Cr(VI) were of 0.478 ± 0.006 and 0.625 ± 0.099 mg.g⁻¹, respectively, that represents a reduction of the total chlorophyll content of 59.76 and 50.08 %, regarding to its initial value.

E. crassipes, by its part, only presented significant declines (p<0.05) in the chlorophyll total concentration in the treatments with chromium levels of 50 mg.L⁻¹ with 0.842 ± 0.075 mg.g⁻¹; representing a decline of 49.59 %. The rest of the evaluated treatments maintained their

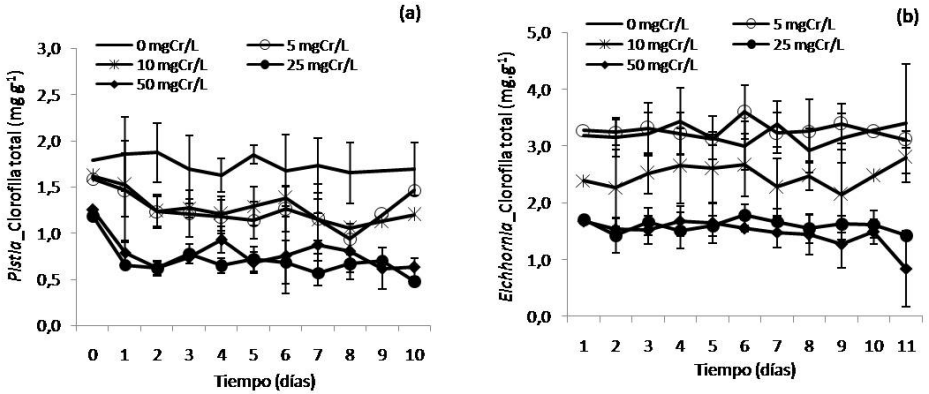


Figura 3. Efecto de la concentración de Cr (VI) en el desarrollo de (a) *Pistia stratiotes* y (b) *Eichhornia crassipes* en función del contenido de clorofila total.

Figure 3. Effect of the concentration of Cr (VI) on the development of (a) *Pistia stratiotes* and (b) *Eichhornia crassipes* depending on the content of total chlorophyll.

El tratamiento control mantuvo su contenido de clorofila total en $1,752 \pm 0,101 \text{ mg.g}^{-1}$. Sin embargo, la concentración de clorofila en los tratamientos expuestos a las concentraciones de 25 y 50 mg.L^{-1} de Cr(VI) fueron de $0,478 \pm 0,006$ y $0,625 \pm 0,099 \text{ mg.g}^{-1}$, respectivamente, lo que representa una reducción del contenido de clorofila total del 59,76 y 50,08 %, con respecto a su valor inicial.

E. crassipes por su parte, solo presentó descensos significativos ($p < 0,05$) en la concentración de clorofila total en los tratamientos con niveles de cromo de 50 mg.L^{-1} con $0,842 \pm 0,075 \text{ mg.g}^{-1}$; representando un descenso del 49,59 %. El resto de los tratamientos evaluados mantuvieron su contenido de clorofila total, sin diferencias significativas.

Por su parte, el contenido de carotenoides totales no mostró diferencias significativas en los

total chlorophyll content, without significant differences.

Meanwhile, the total carotenoids content did not show significant differences in the treatments with *Pistia stratiotes*. While, for *Eichhornia crassipes* a significant decrease ($p < 0.05$) was obtained, only in the treatment exposed at 50 mg.L^{-1} of Cr (VI), presenting a carotenoids content of $0.6495 \pm 0.0004 \text{ mg.g}^{-1}$ in the control. Instead in the presence of metal at 50 mg.L^{-1} its content was $0.2651 \pm 0.1202 \text{ mg.g}^{-1}$ for a decrease of 41.39 %.

The results obtained in the present study show a similar tendency to the reported in previous studies, as the realized by Montoya *et al.* (2015), in which it was shown that the exposure of *E. crassipes* at concentrations of Cr (VI) of 30 mg.L^{-1} , causes damages in the photosystem, showing a diffusion and discontinuity of chloroplast membranes and

tratamientos con *Pistia stratiotes*. Mientras que, para *Eichhornia crassipes* se obtuvo un decrecimiento significativo ($p < 0,05$) solo en el tratamiento expuesto a 50 mg.L^{-1} de Cr (VI), presentando un contenido de carotenoides de $0,6495 \pm 0,0004 \text{ mg.g}^{-1}$ en el control. En cambio, en presencia del metal a 50 mg.L^{-1} su contenido fue $0,2651 \pm 0,1202 \text{ mg.g}^{-1}$ para un decrecimiento de 41,39 %.

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran una tendencia similar a los reportados en estudios anteriores, como el realizado por Montoya *et al.* (2015), en el cual se demostró que la exposición de *E. crassipes* a concentraciones de Cr (VI) de 30 mg.L^{-1} , causa daños en el fotosistema, mostrando una difusión y discontinuidad de las membranas del cloroplasto y membranas tilacoidales, que generan desbalances en el proceso de captación y transporte electrones. Igualmente, otras macrófitas como el “Junco” (*Juncus effusus*), la de “Espinaca acuática” (*Ipomonea aquatica*) y el “Limoncillo” (*Cytopogon felxuosus*), expuestas a rangos similares de Cr(VI), muestran daños a nivel fotosintético, en términos de la concentración de clorofilas *a*, *b* y carotenoides, con manifestaciones de clorosis, es decir, amarillamiento de las hojas por deficiencia de clorofila y carencia de nutrientes (Gruber *et al.*, 2008; Kumar, 2016). En este sentido, Farnese *et al.* (2014), reportaron que el decrecimiento en el contenido de clorofila total y carotenoides es uno de los primeros síntomas de toxicidad en las plantas por exposición a metales pesados. Por

thylakoid membranes, that generate imbalances in the catchment and transport process of electrons. Also, other macrophytes as the “Junco” (*Juncus effusus*), the “Espinaca acuática” (*Ipomonea aquatica*) and the “Limoncillo” (*Cytopogon felxuosus*), exposed to a similar ranges of Cr (VI), show damages at photosynthetic levels, in terms of the concentrations of chlorophylls *a*, *b* and carotenoids, with manifestations of chlorosis, that is to say, leaf yellowing due to chlorophyll deficiency and lack of nutrients (Gruber *et al.*, 2008; Kumar, 2016). In this sense, Farnese *et al.* (2014), reported that the decrease in the total chlorophyll and carotenoids content, is one of the first symptoms of toxicity in plants for the exposure to heavy metals. On the other hand, high concentrations of bioaccumulated chromium in plant tissues could induce significant biochemical changes responsible of the inhibition in chlorophyll synthesis that results in a low photosynthetic activity. This inhibition may be due to a reduction in dehydrogenase activity of δ -aminolevulinic acid (ALAD), which is a key enzyme in the synthesis of chlorophyll. The Cr (VI) can interfere with different stages of pigment biosynthesis, probably for the competition with the Fe and the Mg in the process of catchment and transport to the leaves or by Mg ion replacement of the active enzyme sites (Shaid *et al.*, 2017).

About that, Satyakala and Kaiser (1992), indicate that the decrease in chlorophyll content, can be generate due to the changes in metalloenzymes

otra parte, altas concentraciones de cromo bioacumulado en los tejidos de las plantas pudiera inducir cambios bioquímicos significativos responsables de la inhibición en la síntesis de clorofila que resulta en una baja actividad fotosintética. Esta inhibición puede deberse a una reducción de la actividad deshidrogenasa del ácido δ -aminolevulínico (ALAD), la cual es una enzima clave en la síntesis de la clorofila. El Cr(VI) puede interferir con diferentes etapas de la biosíntesis de los pigmentos probablemente por competencia con el Fe y el Mg en el proceso de captación y transporte a las hojas o por el reemplazo de los iones Mg de los sitios activos de enzimas (Shaid *et al.*, 2017).

Al respecto, Satyakala y Kaiser (1992), indican que la disminución en el contenido de clorofila puede generarse debido a cambios en las metaloenzimas por desplazamiento o reemplazo de iones metálicos, producidos por la acumulación de metal en la planta. La posibilidad de sustitución de metales esenciales por el cromo aún no ha sido comprobada, como en el caso de otros metales como el Hg, Pb y Cd, cuya formación de complejos con compuestos aislados de feofitina ha sido confirmada (Bechaieb, 2016). Sin embargo, en el caso de las metaloporfirinas derivados de las porfinas (como la clorofila), las características rígidas de su macrociclo, permite la coordinación de metales cuyo radio iónico no exceda los 0,064 nm, y considerando que el radio iónico para el Cr (III) es 0,062 nm (Torres *et al.*, 1983), no se debe descartar la posibilidad de ocurrencia de esta sustitución.

by displacement or replacement of metal ions, produced by the accumulation of metal in the plant. The possibility of substitution of essential metals as the chromium has not been verified yet, as in the case of other metals as Hg, Pb and Cd, whose formation of complexes with isolated pheophytin compounds has been confirmed (Bechaieb, 2016). However, in the case of metalloporphyrins derivatives from porphyrins (as the chlorophyll), the rigid characteristics of their macrocycle, permit the coordination of metals whose ionic radius does not exceed the 0.064 nm, and considering that the ionic radius for Cr (III) is 0.062 nm (Torres *et al.*, 1983), the possibility of occurrence of this substitution should not be ruled out.

On the other hand, Melgarejo (2010) and Nagajyoti *et al.* (2010), indicate that due to the photosynthesis involves a serie of redox reactions, the imbalance of the redox cellular state caused by phytotoxicity effects by metals produces the excessive increase of the production of reactive oxygen species (ROS) that alters the redox status of the stroma and the thylakoid membrane. In this case, the membranes of chloroplasts because of being rich in polyunsaturated fatty acids, are an objective of peroxidation induced by the ROS, interfering directly and indirectly in the degradation of the photosynthetic machinery, resulting in decrease pigment content and plant growth.

The decrease in the pigment content, as well as the degradation in photosynthetic machinery,

Por otra parte, Melgarejo (2010) y Nagajyoti *et al.* (2010), indicaron que debido a que la fotosíntesis implica una serie de reacciones redox, el desequilibrio del estado celular redox a causa de efectos de fitotoxicidad por metales provoca el incremento desmesurado de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que alteran el estatus redox del estroma y de la membrana tilacoidal. En este caso, las membranas de los cloroplastos por ser ricas en ácidos grasos poliinsaturados son un objetivo de la peroxidación inducida por las ROS, interfiriendo de manera directa e indirecta en la degradación de la maquinaria fotosintética, resultando en la disminución del contenido de pigmentos y del crecimiento de las plantas.

La disminución en el contenido de pigmentos, así como la degradación en la maquinaria fotosintética, generan daños observables en las plantas. Estudios anteriores, han reportado en plantas, lesiones en el sistema radicular originadas principalmente por el Cr (VI), destacándose que no sólo las distintas especies vegetales sino también las distintas partes internas de las plantas difieren considerablemente en el modo de asimilar el cromo y en el tipo de lesiones que causan (Satyakala y Kaiser, 1992; Motoya *et al.* 2015; Prado *et al.*, 2016).

En cuanto a los efectos del cromo en *Eichhornia crassipes* (figura 4), los ensayos realizados durante 10 días, permitieron constatar que a nivel de las partes aéreas de la planta tanto tallo como hojas e inflorescencias

generates observable damages in plants. Previous studies, have reported in plants, lesions in the root system caused mainly by Cr (VI), highlighting that not only the different vegetables species but also the different internal parts of the plants differ considerably in the mood of assimilate the chromium and in the type of lesions that they cause (Satyakala and Kaiser, 1992; Motoya *et al.*, 2015; Prado *et al.*, 2016).

Regarding to the effects of chromium in *Eichhornia crassipes* (figure 4), the rehearsals realized during 10 days, allowed to verify that at the level of the aerial parts of the plant both stem as leaves and inflorescences up to the concentration of 25 mg.L⁻¹; evidences of damages or changes in the pigmentation of the same was not observed.

This evidences that the specific morphological characteristics of the species were maintained as in the control; such as obovate and rounded leaves and almost circular or wider than long; with truncated apex, rounded to slightly obtuse, a little bit thickened, with parallel and thin ribs, in addition to their dark green and shiny coloration; with long, cylindrical and thickened petioles (Guevara and Benítez, 2004). However, due to the short time of the experimental period, they did not present inflorescences; although later, some of them did reach the flowering phase. It is important to mention, that these morphological characteristics were maintained until, 10 days of initiated the study.

hasta la concentración de 25 mg.L⁻¹; no se observaron evidencias de daños o cambios en la pigmentación de las mismas.

Regarding to the effect of the chromium on exposed plants at 50 mg Cr (VI).L⁻¹, symptoms by the toxicity effect before the eight (8)

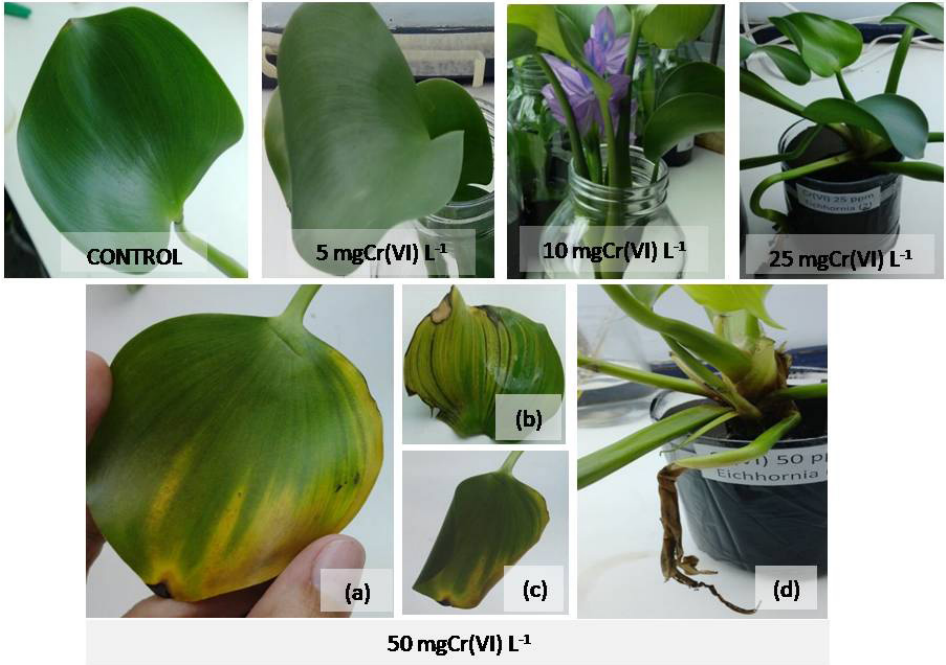


Figura 4. *Eichhornia crassipes* luego de su exposición durante 10 días a Cr(VI):5, 10, 25 y 50 mg.L⁻¹, frente a una planta control no expuesta al metal. Efectos: (a) Deformación y reducción del área foliar, (b) Necrosis en la periferia y nervaduras marcadas y engrosadas, (c) Clorosis, necrosis del ápice, (d) Inflorescencia necrosada y pedúnculo floral poco desarrollado.

Figure 4. *Eichhornia crassipes* after its exposure during 10 days at Cr (VI):5, 10, 25 and 50 mg.L⁻¹, compared to a control plant not exposed to metal. Effects: (a) Deformation and reduction of leaf area, (b) Necrosis in the periphery and marked and thickened ribs, (c) Chlorosis, apex necrosis, (d) Necrotic inflorescence and poorly developed flower peduncle.

Esto evidencia que las características morfológicas específicas de la especie se mantuvieron como en el control; tales como hojas obovadas y redondeadas y casi circulares o más anchas que largas; con ápice truncado, redondeado a ligeramente obtuso, algo engrosadas, con nervaduras

days were not observed. That is to say, its characteristics were similar to those of the control. Instead, from the eighth day, leaves with the following morphophysiological changes were observed: burns on the leaf apex, yellow areas and beginning of the leaf area reduction. The leaf damages are

paralelas y finas. Además, de su coloración verde oscura y brillante; con pecíolos largos, cilíndricos y engrosados (Guevara y Benítez, 2004). Sin embargo, debido al corto tiempo del periodo experimental, no presentaron inflorescencias; aunque posteriormente, algunas si alcanzaron la fase de floración. Es de indicar, que estas características morfológicas se mantuvieron hasta los 10 días de iniciado el estudio.

En cuanto al efecto del cromo en plantas expuestas a 50 mg Cr (VI).L⁻¹, no se observaron síntomas por efecto de toxicidad antes de los ocho (8) días. Es decir, sus características fueron similares a las del control. En cambio, a partir del octavo día, se observaron hojas con los siguientes cambios morfofisiológicos: quemaduras en el ápice foliar, áreas amarillas e inicio de reducción del área foliar. Los daños foliares se hacen más evidentes a los 10 días; entre los cuales se identificaron deformación de las láminas foliares, hojas curvadas hacia la cara abaxial de las hojas, reducción del área foliar en relación al control (figura 4a). Asimismo, se observó clorosis en una superficie adaxial entre un 50 y 60 %, necrosis o desintegración del tejido parenquimático en las periferias de las hojas y nervaduras muy marcadas y engrosadas (figura 4b). Mientras que, en otras hojas se identificaron clorosis periférica con tendencia a una invasión hacia el área central; además de una necrosis en el ápice y una deformación curvada de toda el área al foliar (figura 4c). En una de las plantas expuestas a 50 mg Cr (VI).L⁻¹, se produjo una inflorescencia,

more evident at 10 days; among which; deformation of the leave sheets, leaves curved towards the abaxial side of the leaves and reduction of the leaf area relating to the control were identified (figure 4a). In the same way, chlorosis in the adaxial surface was observed, between 50 and 60 %, necrosis or disintegration of the parenchymal tissue at the peripheries of the leaves and very marked and thickened ribs (figure 4b). While, in other leaves were identified peripheral chlorosis with a tendency to invade into the central area; in addition to a necrosis at the apex and a curved deformation of the entire leaf area (figure 4c). In one of the plants exposed to mg Cr (VI).L⁻¹, an inflorescence was produced, but totally necrotic and with a poorly developed floral peduncle (figure 4d).

Has been established that the parameters of leaf growth act as bioindicators of toxicity for heavy metals, indicating that, as the observed in this investigation, exposed plants to Cr (III) have presented leaf growth reduction, the leaves being comparatively smaller, wilted and chlorotic in comparison to the controls without metal (Shaid *et al.*, 2017). On the other hand, the continuous and prolonged application of Cr (VI) on plants of *Citrullus* causes that the mature leaves become necrotic, permanently wilted, dry and that their shedding occur (Dube *et al.*, 2003).

In the case of *Pistia stratiotes* (figure 5), the leaves in control plants, were characterized by having a rosette disposition, of rounded shape with a rounded apex and devoid of petioles and sessile.

aunque totalmente necrosada y con un pedúnculo floral poco desarrollado (figura 4d).

Se ha establecido que los parámetros de crecimiento de la hoja actúan como bioindicadores de toxicidad por metales pesados, indicándose que al igual que lo observado en esta investigación, plantas expuestas a Cr (III) han presentado reducción del crecimiento foliar, siendo las hojas comparativamente más pequeñas, marchitas y cloróticas en comparación con controles sin el metal (Shaid *et al.*, 2017). Por otra parte, la aplicación continua y prolongada de Cr (VI) en plantas de *Citrullus* causa que hojas maduras se vuelvan necróticas, permanentemente marchitas, secas y que ocurra su desprendimiento (Dube *et al.* 2003).

En el caso de *Pistia stratiotes* (figura 5), las hojas en las plantas control, se caracterizaron por tener disposición arrosadas, de forma obovadas, con el ápice redondeado y carentes de peciolo o sésiles.

Durante el experimento mantuvieron una coloración verde o verde amarillento en las hojas adultas, con superficie cubierta por tricomas o de naturaleza pubescente; y al tacto con aspecto esponjoso y con nervaduras paralelas. Es normal, la presencia de hojas adultas; ya senescentes y de color amarillo en la parte basal de las plantas; lo cual no debe confundirse con efectos nocivos o enfermedades en el estudio realizado.

En cuanto a las plantas expuestas a 5 mg Cr (VI).L⁻¹ al término de los 10 días, se reflejaron síntomas; tales como, un deterioro parcial y

During the experiment they maintained a green or yellowish green coloration in the adult leaves, with surface covered by trichomes or from pubescent nature; and to the touch with a spongy appearance and with parallel ribs. It is normal the presence of adult leaves; already senescent and yellow in the basal part of the plants; which should not be confused with harmful effects or diseases in the study realized.

Regarding to the plants exposed to 5 mg Cr (VI).L⁻¹ at the end of the 10 days, symptoms were reflected; such as, a partial deterioration and yellowing by the effect of the damage in parenchymal tissue. With the increase of the concentration to 10 mg Cr (VI).L⁻¹, necroses beginning of the leaf tissues were identified, with yellow coloration. Likewise, in the basal leaves a more evident deterioration was appreciated than in the younger leaves.

In the plants exposed to 25 mg Cr (VI).L⁻¹, generalized yellowing was observed in both the basal and upper leaves and young, with necrosis around of 95 %, with deformations, dehydrations and with signs of burns. However, some leaves with slightly greenish ribs were still observed.

When they're exposed 50 mg Cr (VI).L⁻¹, the morphological and functional damages were more evident than the plants maintained at 25 mg.L⁻¹. The mortality is the definitive and terminal effect of chromium at this concentration. That is to say, the leaves are completely shown dehydrated, depigmented or bleached; regarding to

amarillamiento por efecto del daño en tejidoparenquimático. Con el aumento de la concentración a $10 \text{ mg Cr (VI).L}^{-1}$, se identificaron inicio de necrosis de los tejidos foliares, con coloración amarilla. Así mismo, en las hojas basales se apreció un deterioro más evidente que en las hojas más jóvenes.

En las plantas expuestas a $25 \text{ mg Cr (VI).L}^{-1}$, se observaron tanto en las hojas basales, como en las superiores y jóvenes un amarillamiento generalizado, con necrosis en alrededor de un 95 %, con deformaciones, deshidrataciones y con signos de quemaduras. Sin embargo, aún se observaban algunas hojas con nervaduras ligeramente verdes.

the younger leaves. In such a way that the morphophysiological damages to the leaves of *Pistia stratiotes*, are accelerated with the concentration of Cr (VI), until inducing the total mortality.

The chlorosis on leaves was also observed by Meza (2013), during the exposure of *Pistia stratiotes* to Cr (III) (6 mg Cr.L^{-1}), who indicated a slight depigmentation on some leaves of the plant, low symptoms of phytotoxicity. However, this author interferes that this aquatic plant can tolerate high concentrations of chromium.

In general, the *Pistia stratiotes* plant presented a higher morphological affectation, product of the metal toxic

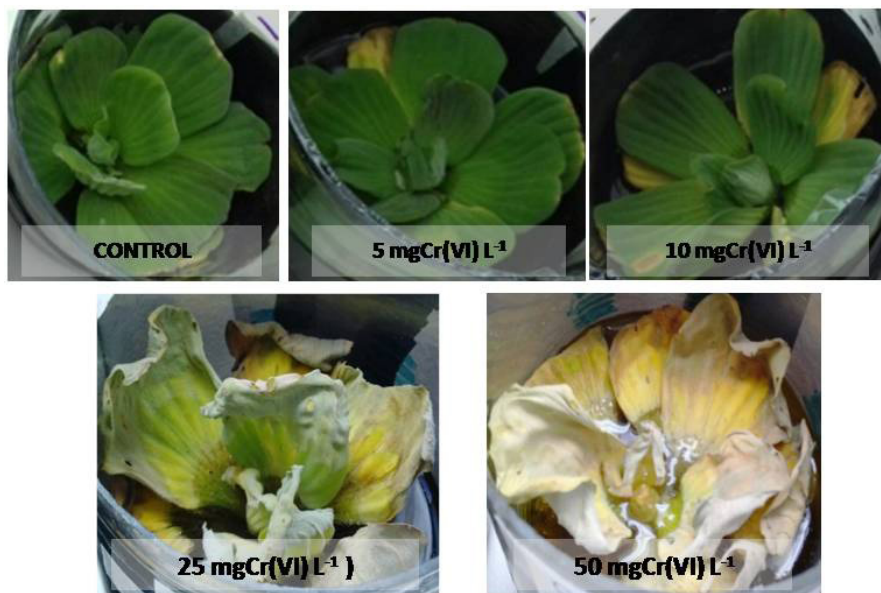


Figura 5. *Pistia stratiotes* luego de su exposición durante 10 días a concentraciones de Cr(VI) de 5, 10, 25 y 50 mg.L^{-1} , frente a una planta control no expuesta al metal.

Figure 5. *Pistia stratiotes* after its exposure during 10 days at concentrations of Cr(VI) of 5, 10, 25 and 50 mg.L^{-1} , compared to a control plant not exposed to the metal.

Al ser expuestas a 50 mg Cr (VI).L⁻¹, los daños morfológicos y funcionales se hicieron más evidentes que las plantas mantenidas a 25 mg.L⁻¹. La mortalidad es el efecto definitivo y terminal del cromo a esta concentración. Es decir, las hojas se muestran completamente deshidratadas, despigmentadas o blanqueadas; en lo que respecta a las hojas más jóvenes. De tal manera, que los daños morfofisiológicos a las hojas de *Pistia stratiotes*, se aceleran con la concentración de Cr (VI), hasta inducir mortalidad total.

La clorosis en hojas también fue observado por Meza (2013), durante la exposición de *Pistia stratiotes* a Cr (III) (6 mg Cr.L⁻¹), quien indicó una leve despigmentación en algunas hojas de la planta bajos síntomas de fitotoxicidad. Sin embargo, este autor infiere que esta planta acuática puede tolerar altas concentraciones de cromo.

En general, la planta *Pistia stratiotes* presentó una mayor afectación morfológica, producto del efecto tóxico del metal, con respecto a la planta *E. crasipes*, la cual mostró una mayor tolerancia. Sin embargo, estas plantas logran su desarrollo sin alteraciones a mayores concentraciones de cromo que otras macrófitas, como *Salvinia molesta*, la cual reporta un crecimiento normal sin presentar síntomas de toxicidad a concentraciones de cromo de 0,25 mg.L⁻¹; sin embargo, a concentraciones superiores a 2,5 mg.L⁻¹, presenta síntomas similares a los observados para este estudio para concentraciones de 25 y 50 mg.L⁻¹, como son hojas blanco-amarillentas,

effect, regarding to the *E. crasipes* plant, which showed a higher tolerance. However, these plants achieve their development without alterations at higher chromium concentrations than other macrophytes, as *Salvinia molesta*, which reports a normal growth without presenting symptoms of toxicity at chromium concentrations of 0.25 mg.L⁻¹; however, at higher concentrations to 2.5 mg.L⁻¹, presents similar symptoms to those observed for this study for concentrations of 25 and 50 mg.L⁻¹, as the white-yellowish leaves, that present the margin of the dark brown sheet (necrosis) and show degeneration of the root (Kakkalameli and Taranath, 2014).

Influence of hexavalent chromium on the protein content of evaluated aquatic plants evaluated.

The exposure of the plants to the contaminated media with Cr (VI) also produced variations in the protein content in the plants evaluated (figure 6), obtaining protein contents without significant differences ($p > 0.05$) for the control and the treatments with levels of Cr(VI) of 5, 10 and 25 mg.L⁻¹; while the treatments with 50 mg.L⁻¹ of chromium showed a significant stimulation ($p < 0.05$) in the production of proteins for both plants, with amounts of 40.79 ± 1.62 mg.g⁻¹ and 66.06 ± 0.83 mg.g⁻¹, for *P. stratiotes* and *E. crassipes* respectively, that represent increases of 40.16 and 18.13 %, respectively.

Regarding to the effect of Cr (VI) on the protein content, González *et al.* (2008), reported that in the exposed plants at concentrations of Cr(VI) exist a stimulation in the protein

que presentan el margen de la lámina marrón oscuro (necrosis) y muestra degeneración de la raíz (Kakkalameli y Taranath, 2014).

Influencia del cromo hexavalente en el contenido de proteínas de las plantas acuáticas evaluadas

La exposición de las plantas al medio contaminado con Cr(VI) también ocasionó variaciones en cuanto al contenido de proteínas en las plantas evaluadas (figura 6), obteniendo contenidos de proteínas sin diferencias significativas ($p > 0,05$) para el control y los tratamientos con niveles de Cr (VI) de 5, 10 y 25 mg.L⁻¹; mientras que, los tratamientos con 50 mg L⁻¹ de cromo mostraron una estimulación significativa ($p < 0,05$) en la producción de proteínas para ambas plantas, con cantidades de $40,79 \pm 1,62$ mg.g⁻¹ y $66,06 \pm 0,83$ mg.g⁻¹, para *P. stratiotes* y *E. crassipes* respectivamente, lo que representan incrementos de 40,16 y 18,13 %, respectivamente.

En cuanto al efecto del Cr (VI) en el contenido de proteínas, González *et al.* (2008), reportaron que en plantas expuestas a concentraciones de Cr (VI) existe una estimulación en la síntesis de proteína, posiblemente debido a que el estrés producido induce la producción de las metaloproteínas, como un mecanismo de defensa. Estas proteínas al igual que las fitoquelatinas, son el principal mecanismo de defensa, que actúan quelando el metal formando un complejo metal-proteína que es transportado y almacenado en las vacuolas celulares.

synthesis, possibly due to the stress produced induces the production of metalloproteins, as a defense mechanism. These proteins as well as phytochelatin, are the principal defense mechanism, that act by chelating the metal-protein complex that is transported and stored.

Conclusions

The plants evaluated *E. crassipes* and *P. stratiotes*, showed tolerance to hexavalent chromium, demonstrating their capacity to develop properly with reference to the production of biomass and metabolites, as pigments and protein, highlighting that the *E. crassipes* specie is able to tolerate higher concentrations of chromium (25 mg.L⁻¹) than the *P. stratiotes* specie (10 mg.L⁻¹). However, both species are potentially adequate for the growth and treatment of effluents contaminated with this metal.

Funding source

Self-financed. Realized at the Chemistry department of the Experimental Science School, Zulia University, Maracaibo, Venezuela.

End Of English Version

Conclusions

Las plantas evaluadas *E. crassipes* y *P. stratiotes*, mostraron tolerancia al cromo hexavalente, demostrando su capacidad de desarrollarse adecuadamente con referencia a la producción de biomasa y de

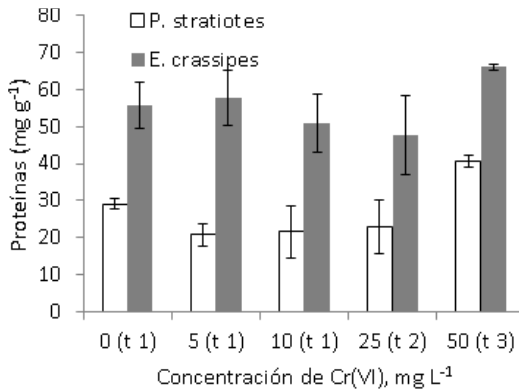


Figura 6. Efecto del Cr (VI) en el contenido de proteínas de *Pistia stratiotes* y *Eichhornia crassipes*. t 1: 10 días, t 2: 6 días, t 3: 4 días.

Figure 6. Effect of Cr (VI) on protein content of *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes*. t 1: 10 days, t 2: 6 days, t 3: 4 days.

metabolitos como pigmentos y proteínas, resaltándose que la especie *E. crassipes* es capaz de tolerar mayores concentraciones de cromo (25 mg.L^{-1}) que la especie *P. stratiotes* (10 mg.L^{-1}). Sin embargo, ambas especies son potencialmente adecuadas para el crecimiento y tratamiento de efluentes contaminados con este metal.

Fuente de financiación

Autofinanciado. Realizado en el Departamento de Química de la Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

Literatura citada

Alfárez, J., J. Araiza y M. Flores. 2009. Captación temporal de cromo y su efecto en el crecimiento de plantas de alfalfa (*Medicago sativa*) in vitro. XIII Congreso Nacional de

Biotecnología y Bioingeniería, Acapulco, México.

Bechaieb, R., A. Akacha y H. Gérard. 2016. Quantum chemistry insight into Mg-substitution in chlorophyll by toxic heavy metals: Cd, Hg and Pb. Chemical physic letters.663, 27-32. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cplett.2016.09.053>

Dipu, S., A. Anju, V. Kumar y G. Salom.2010. Phytoremediation of Dairy Effluent by Constructed Wetland Technology Using Wetland Macrophytes. Global J. Environ. Res. 4(2): 90-100.

Dube, B., K. Tewari, J. Chatterjee y C. Chatterjee. 2003. Excess chromium alters uptake and translocation of certain nutrients in *Citrullus*. Chemosphere. 53: 1147-1153.

Farnese, F., J. Oliveira, F. Lima, G. Leão, G. Gusman y L. Silva.2014. Evaluation of the potential of *Pistia stratiotes* L. (water lettuce) for bioindication and phytoremediation of aquatic environments contaminated with arsenic. Braz. J. Biol. 74(3):103-112.

- González, B., M. Velázquez, J. Amador, E. Ramírez y N. Trujillo. 2008. Efecto de la aplicación del cromo en el crecimiento y producción de maíz (*Zea mays*). Instituto de Ecología, Universidad del Mar. Puerto Angel, Oaxaca. México. http://web.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/CA/EO/CAO-24.pdf
- Gruber, H., P. Wiessner, M. Kuschik, K. Appenroth. 2008. Physiological Responses of *Juncus* (Rush) to Chromium and Relevance for Wastewater Treatment in Constructed Wetlands. *International Journal of Phytoremediation*. 10(2):79-90.
- Guevara, L. y C. Benítez. 2004. Caracterización morfológica y relaciones fenéticas entre especies de los órdenes Liliales y Poales. *Bioagro*.16(2):99-112.
- Gupta P., Surendra R., Mahindrakar A., 2012. Treatment of Water Using Water Hyacinth, Water Lettuce and Vetiver Grass - A Review, Resources and Environment 2012, 2(5): 202-215, DOI: 10.5923/j.re.20120205.04
- Jeffrey, S., G. Humphrey. 1975. New spectrophotometric equations for determinations Chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural populations. *Biochem. Physiol. Phanz*. 167: 191-194.
- Jobby, R., P. Jha, A. Kumar y N. Desai. 2018. Biosorption and Biotransformation of Hexavalent Chromium [Cr(VI)]: a Comprehensive Review. *Chemosphere*.207: 255-266 DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.05.050
- Kakkalamei, S. y T. Taranath.2014. Chromium induced morphological and biochemical responses of *Salvinia molesta* Mitchel. *International Journal of Current Research*, 16(11):10086-10089.
- Kumar, R., R. Kumar, V. Mishra, A. Qidwai, A. Pandey, S. Kant, M. Pandey, A. Pathak y A. Dikshit. 2016. Detoxification and tolerance of heavy metals in plants. *Plant Metal Interaction*. *Capitulo* 13:335-358. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803158-2.00013-8>.
- Melgarejo, L. 2010. Experimentos en Fisiología Vegetal. Universidad Nacional de Colombia. Primera edición, 63-123.
- Meza Pérez, M., J. Marín, E. Quintero, G. Andrade, N. Lizardo y C. Polo. 2013. Bioabsorption of Pb (II) and Cr (III) using the aquatic plant *Pistia stratioides*. *Revista de la Facultad de Ingeniería U.C.V.*: 28. 49-58.
- Montoya, W., E. Peña y R. Torres. 2015. Variaciones ultraestructurales inducidas por Cromo (VI) en hojas de Jacinto acuático (*Eichhornia crassipes*). *Limnetica*, 34(1):85-94.
- Nagajyoti, P., K. Lee y T. Sreekanth. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environ Chem Lett*. 8:199-216, DOI 10.1007/s10311-010-0297-8.
- Núñez, R., Y. Meas, R. Borges y E. Olguín. 2004. Fitorremediación: fundamentos y aplicaciones, Ciencia, Julio-septiembre: 69-82.
- Paris, C., H. Hadad, M. Maine y N. Suñe. 2005. Eficiencia de dos macrófitas flotantes libres en la absorción de metales pesados. *Limnetica*. 24(3-4):237-244.
- Pedrol, N., y P. Ramos. 2001. Protein content quantification by Bradford method, en: Reigosa M., *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, 283-295. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Prado, C., S. Chocobar, E. Pagano, F. Prado y M. Rosa. 2016. Differential physiological responses of two *Salvinia* species to hexavalent chromium at a glance. *Aquatic Toxicology*. 175: 213-221.
- Satyakala, G. y J. Kaiser.1992. Chromium-Induced Biochemical Changes in *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms and *Pistia stratiotes* L. *Environ. Contam. Toxicol*. 48: 921-928.
- Shahid, M., S. Shamshad, M. Rafiq, S. Khalid, S. Bibi, N. Niazi, C. Dumat y M. Rashid. 2017. Chromium speciation, bioavailability, uptake, toxicity and detoxification in soil-plant system: A review. *Chemosphere*. 178: 513-533.

Strickland, J. y T. Parson. 1972. A practical handbook of seawater analysis fisheries research board of Canada. Bulletin 167. 2nd Edition. Ottawa.

Torres, H., H. Carminatti y C. Cardini. 1983. Bioquímica general, Capítulo 15, Estructuras de porfirinas y metaloporfirinas, Editorial Ateneo, Buenos Aires, Argentina, 265-275.